

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

---

ISSN 1512-0112

№ 6 (279) Июнь 2018

---

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии  
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

**No 6 (279) 2018**

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

Издается в сотрудничестве и под патронажем  
Тбилисского государственного медицинского университета

გამოიცემა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტთან  
თანამშრომლობითა და მისი პატრონაჟით

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ  
ТБИЛИСИ - НЬЮ-ЙОРК

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

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

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

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

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

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

## **МЕДИЦИНСКИЕ НОВОСТИ ГРУЗИИ**

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

### **НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР**

Лаури Манагадзе

### **ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР**

Нино Микаберидзе

### **ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА**

Николай Пирцхалаишвили

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ**

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

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

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

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

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

Website:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

© 2001. Ассоциация деловой прессы Грузии

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



## **GEORGIAN MEDICAL NEWS**

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

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

### **SCIENTIFIC EDITOR**

Lauri Managadze

### **EDITOR IN CHIEF**

Nino Mikaberidze

### **DEPUTY CHIEF EDITOR**

Nicholas Pirtskhalaishvili

### **SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL**

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

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

### **SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD**

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

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

### **CONTACT ADDRESS IN TBILISI**

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

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

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

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

Phone: +1 (917) 327-7732

### **WEBSITE**

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

## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила:

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

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

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

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

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

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

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

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

7. Фамилии отечественных авторов приводятся в оригинальной транскрипции.

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

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

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

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

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

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

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

## REQUIREMENTS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## ავტორთა საქურაღებოლ!

რედაქციაში სტატიის წარმოდგენისას საჭიროა დაიცვათ შემდეგი წესები:

1. სტატია უნდა წარმოადგინოთ 2 ცალად, რუსულ ან ინგლისურ ენებზე დაბეჭდილი სტანდარტული ფურცლის 1 გვერდზე, 3 სმ სიგანის მარცხენა ველისა და სტრიქონებს შორის 1,5 ინტერვალის დაცვით. გამოყენებული კომპიუტერული შრიფტი რუსულ და ინგლისურენოვან ტექსტებში - **Times New Roman (Кириллица)**, ხოლო ქართულენოვან ტექსტში საჭიროა გამოვიყენოთ **AcadNusx**. შრიფტის ზომა – 12. სტატიას თან უნდა ახლდეს CD სტატიით.

2. სტატიის მოცულობა არ უნდა შეადგენდეს 10 გვერდზე ნაკლებს და 20 გვერდზე მეტს ლიტერატურის სიის და რეზიუმეების (ინგლისურ, რუსულ და ქართულ ენებზე) ჩათვლით.

3. სტატიაში საჭიროა გაშუქდეს: საკითხის აქტუალობა; კვლევის მიზანი; საკვლევი მასალა და გამოყენებული მეთოდები; მიღებული შედეგები და მათი განსჯა. ექსპერიმენტული ხასიათის სტატიების წარმოდგენისას ავტორებმა უნდა მიუთითონ საექსპერიმენტო ცხოველების სახეობა და რაოდენობა; გაუტკივარებისა და დაძინების მეთოდები (მწვავე ცდების პირობებში).

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

5. ცხრილები საჭიროა წარმოადგინოთ ნაბეჭდი სახით. ყველა ციფრული, შემაჯამებელი და პროცენტული მონაცემები უნდა შეესაბამებოდეს ტექსტში მოყვანილს.

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

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

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

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

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

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

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

აღნიშნული წესების დარღვევის შემთხვევაში სტატიები არ განიხილება.

Содержание:

<b>Шулутко А.М., Османов Э.Г., Гогохия Т.Р., Натрошвили А.Г., Мачарадзе А.Д.</b> ВОЗДУШНО-ПЛАЗМЕННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ.....	7
<b>Kozlovskaya I., Kornaga S., Kykhtyn M., Horiuk Y., Karatieieva S.</b> FORMATION OF BIOFILMS BY BACTERIA EXCRETED FROM CHRONIC ANAL FISSURE AND THE INFLUENCE OF THE DIRECT CURRENT ELECTRIC FIELD ON THEM .....	12
<b>Дабрундашвили З.Г., Бахтуридзе Д.Г., Мардалишвили К.М.</b> ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАСШИРЕННО-КОМБИНИРОВАННЫХ ОПЕРАЦИЙ НА ЗОНАХ ПРЕ- И ПАРАТРАХЕАЛЬНОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ РАКЕ ПОДСКЛАДОЧНОГО ОТДЕЛА ГОРТАНИ.....	18
<b>Vashakidze N., Mebonia N., Kereselidze M., Gvamichava R., Zhizhilashvili S.</b> EFFECT OF SELECTED PROGNOSTIC AND RISK FACTORS ON SURVIVAL OF WOMEN WITH BREAST CANCER IN GEORGIA .....	23
<b>Meiramova A., Smagulova A., Akhetova N., Ukybasova T., Ainabekova B.</b> PLACENTAL GROWTH FACTOR AND MATERNAL CHARACTERISTICS IN THE FIRST TRIMESTER AMONG PREGNANT WOMEN OF KAZAKH NATIONALITY .....	29
<b>Ониськова О.В., Ющенко Л.А., Тихолаз В.А., Олейник В.С., Моисеенко А.А.</b> АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР) .....	33
<b>Солопова А. Г., Солопова А.Е., Макацария А.Д., Москвичева В.С., Капанадзе Д.Л.</b> СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ЭТИОПАТОГЕНЕЗ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ МИОМ МАТКИ (ОБЗОР).....	42
<b>Татарчук Т.Ф., Захаренко Н.Ф., Бачинская И.В., Косей Н.В.</b> ФОРМИРОВАНИЕ АУТОИММУННОГО ПОРАЖЕНИЯ ЯИЧНИКОВ В ПУБЕРТАТНОМ ПЕРИОДЕ .....	49
<b>Tskimanauri N., Khachapuridze N., Imnadze P., Chanadiri T., Bakhtadze S.</b> CORRELATION BETWEEN PERINATAL RISK FACTORS AND NEURODEVELOPMENTAL OUTCOMES IN CHILDREN AT 24 MONTHS OF AGE .....	56
<b>Jincharadze N., Kazakhashvili N., Sakvarelidze I., Gerzmava O.</b> HEALTH OF CHILDREN UNDER 12 MONTHS OF AGE IN GEORGIA .....	62
<b>Kherkheulidze M., Chkhaidze I., Kavlashvili N., Kandelaki E., Adamia N., Abelashvili D., Tabatadze T.</b> EVALUATION OF DEVELOPMENTAL OUTCOMES WITH BAYLEY III TEST IN PRETERM INFANTS WITH RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME .....	67
<b>Брында М.С., Бильченко А.В., Махаринская Е.С., Шевчук М.И., Яблчанский Н.И.</b> ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВООБРАЩЕНИЯ В ПЕРВЫЕ 3 МЕСЯЦА ПОСЛЕ РАДИОЧАСТОТНОЙ АБЛЯЦИИ ФИБРИЛЛЯЦИИ И ТРЕПЕТАНИЯ ПРЕДСЕРДИЙ.....	73
<b>Petyunina O., Kopytsya M., Kuznetsov I., Vyshnevskaya I.</b> PROGNOSTICATION OF CLINICAL OUTCOMES AFTER STEMI: THE ROLE OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A .....	79
<b>Пинчук В.А., Кривчун А.М., Суббота Л.Ю., Силенко Г.Я., Пинчук В.В.</b> ВЕРОЯТНЫЙ ПРОГРЕССИРУЮЩИЙ СУПРАНУКЛЕАРНЫЙ ПАРАЛИЧ (СИНДРОМ СТИЛА-РИЧАРДСОНА- ОЛЬШЕВСКОГО): КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ .....	87
<b>Delva M., Lytvynenko N., Delva I.</b> FACTORS ASSOCIATED WITH THE TIME-BASED PHENOMENOLOGY OF POST-STROKE FATIGUE OVER THE FIRST YEAR AFTER STROKE OCCURRENCE .....	92
<b>Daschuk A., Dobrzhanskaya Ye., Pustovaya N.</b> THE ROLE OF THE STRESS IN THE DEVELOPMENT OF SEVERE FORMS OF PSORIASIS (CASE REPORT).....	97
<b>Kanashvili B., Saganelidze K., Ratiani L.</b> THE ROLE OF PROCALCITONIN AND BLOOD LACTIC ACID VALUES IN PROGNOSIS OF SEPSIS AND SEPTIC SHOCK IN POLYTRAUMA PATIENTS .....	102



<b>Шнайдер К.В., Моренко М.А., Ковзель Е.Ф., Гагауова М.Р., Усенова О.П.</b> КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ТЯЖЕЛОЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.....	107
<b>Fedota O., Roschenyuk L., Tyzhnenko T., Merenkova I., Vorontsov V.</b> PHARMACOGENETIC EFFECTS OF METHOTREXATE IN UKRAINIAN PATIENTS DEPENDING ON THE MTHFR GENOTYPES (CLINICAL CASES) .....	111
<b>Пилипко И.В., Галицкая-Хархалис А.Я., Геник Т.Р., Флекей Н.В., Панчишин Н.Я.</b> МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННЕЙ СТРУКТУРЫ ОРГАНОВ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ .....	117
<b>Mostovoy Y., Demchuk A., Konstantynovych T., Chichirelo-Konstantynovych K., Demchuk A.</b> FROM THE PERSISTENT EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION TO ANGIOIMMUNOBlastic T-CELL LYMPHOMA - DRAMATIC CONVERGENCE. ANALYSIS OF THE CLINICAL CASE .....	122
<b>Avilova O., Shyian D., Marakushin D., Erokhina V., Gargin V.</b> ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE ORGANS OF THE IMMUNE SYSTEM UNDER THE INFLUENCE OF XENOBIOTICS .....	132
<b>Абхазова М.В., Квачадзе И.Д., Цагарели М.Г., Мжаванадзе Д.Ш., Чичинадзе Г.Н.</b> КОРРЕЛЯЦИЯ СТЕПЕНИ МЕХАНИЧЕСКОЙ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ БЕЛКА $\mu$ -ОПИОИДНОГО РЕЦЕПТОРА В РАЗЛИЧНЫХ ФАЗАХ ОВАРИАЛЬНО-МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА .....	137
<b>Iatsyna O., Vernygorodskiy S., Kostyev F.</b> MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF NO-SYNTHASE DISTRIBUTION IN OVERACTIVE BLADDER AND STRESS URINE INCONTINENCE IN ANIMAL MODELS ADMINISTERED WITH EXPERIMENTAL PHARMACOCORRECTION REGIMENS .....	143
<b>Voloshchuk N., Melnik A., Danchenko O., Nechiporuk V., Kosechenko N.</b> THE STATE OF THE CYSTATIONINE GAMMA-LYASE / H <sub>2</sub> S SYSTEM IN THE LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF RATS WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA UNDER SIMVASTATIN ADMINISTRATION .....	150
<b>Karsanidze A., Antelava N., Gorgasledze N., Ghonghadze M., Okudzhava M., Pachkoria K.</b> STATIN-ASSOCIATED INTOLERANCE AND ITS PREVENTION.....	155
<b>Iermolenko T., Krivoshepa A, Shapoval O.</b> DYNAMICS OF INDICATORS OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN RESPONSE TO THE APPLICATION OF SODIUM POLY-(2.5- DIHYDROXYPHENILEN)-4- THIOSULFATE ACID IN EXPERIMENTAL ACUTE KIDNEY INJURY .....	161
<b>Ларина С.Н., Сахарова Т.В., Чебышев Н.В., Беречкидзе И.А., Деркачева Н.И.</b> ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ПАРАЗИТИЧЕСКИХ ПРОСТЕЙШИХ И ВОЗМОЖНОСТИ РАЗРАБОТКИ АНТИПРОТОЗОЙНЫХ ПРЕПАРАТОВ (ОБЗОР) .....	171
<b>Kuzminska E, Omelchuk S., Karlova E., Grinzovsky A.</b> DRUG-FREE MODALITIES OF IRON DEFICIENCY CONDITIONS IN UKRAINE .....	175
<b>Vagmut I., Kolisnyk I., Titkova A., Babiy L., Filipchenko S.</b> NITRIC OXIDE SYNTHESIS INTENSITY ASSESSMENT BY THE CONTENT OF ITS TERMINAL STABLE METABOLITES IN THE BLOOD OF RATS UNDER FLUORIDE INTOXICATION .....	180
<b>Манатова А.М., Семенова Ю.М., Пивина Л.М., Белихина Т.И., Булегенов Т.А.</b> ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПОТОМКОВ ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ОБЛУЧЕНИЮ В РЕЗУЛЬТАТЕ ИСПЫТАНИЙ ЯДЕРНОГО ОРУЖИЯ В КАЗАХСТАНЕ .....	184
<b>Korotkyi O., Vovk A., Kuryk O., Dvorshchenko K., Falalyeyeva T., Ostapchenko L.</b> CO-ADMINISTRATION OF LIVE PROBIOTICS WITH CHONDROPROTECTOR IN MANAGEMENT OF EXPERIMENTAL KNEE OSTEOARTHRITIS .....	191
<b>Krynyska I., Marushchak M., Svan O., Akimova V., Mazur L., Habor H.</b> THE INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH CARRAGEENAN SOLUTION CONSUMPTION.....	196

НАУКА

ВОЗДУШНО-ПЛАЗМЕННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ  
В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ

Шулутко А.М., Османов Э.Г., Гогохия Т.Р., Натрошвили А.Г., Мачарадзе А.Д.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
«Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, Россия*

Проблема качественной помощи пациентам с раневой инфекцией (РИНФ) по сей день актуальна. По экспертным оценкам в структуре нозокомиальных инфекций ее частота в США достигает 36%, в России – 25% [6,8]. Тому есть целый ряд причин. Во-первых, отмечается неуклонное старение населения, рост популяции больных сахарным диабетом, вторичным иммунодефицитом. Во-вторых, увеличение числа различного рода хирургических вмешательств особенно у лиц преклонного возраста [10-12]. В-третьих, число нагноений на фоне бытового и транспортного травматизма, техногенных катастроф и вооруженных конфликтов в последние годы не становится меньше.

Ведущим способом лечения РИНФ остается хирургическая обработка гнойно-некротического очага. Однако при более тяжелых ее формах (флегмонозная рожа, обширные гнойные раны, некротизирующий фасциит), представляющих угрозу для жизни, помимо радикальной некрэктомии и антибактериальной терапии, часто требуются эффективные средства локального воздействия на патологический очаг [1,11].

Среди множества физико-химических методов и средств обработки гнойных ран воздушно-плазменная хирургическая технология занимает особое место. Многочисленные исследования свидетельствуют о следующих преимуществах воздушно-плазменного потока (ВПП): практически бескровное рассечение, качественный гемостаз и стерилизация раневой поверхности; создание оптимальных условий для регенерации тканевого субстрата, особенно благодаря стимулирующему эффекту промежуточных продуктов ионизации и экзогенного оксида азота (NO) [2,4,7]. В течении нескольких десятилетий технология воздушно-плазменного потока широко применяется в различных сферах хирургической практики. Накоплен огромный опыт ее применения в гнойной хирургии.

Исходя из вышеизложенного, целью исследования явилась оценка эффективности воздушно-плазменной технологии в лечении раневой инфекции.

**Материал и методы.** За период с 2004 по 2017гг. в условиях хирургического отделения УКБ №4 Сеченовского Университета с применением воздушно-плазменной технологии нами пролечено 589 пациентов в возрасте от 19 до 83 лет (таблица 1). Наиболее часто причиной госпитализации в стационар являлись острые гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожной клетчатки (карбункулы, нагноившиеся

гематомы, подкожные абсцессы). Самой распространенной локализацией РИНФ являлись нижние конечности - 410 (69,6%) случаев. Глубина гнойно-некротического поражения мягких тканей соответствовала I-III уровням согласно классификации D. Ahrenholz [8]; площадь - от 18 до 400 см<sup>2</sup> (в среднем, 70±10,5 см<sup>2</sup>). Подавляющее большинство - 496 (84,2%) составили лица со II уровнем, когда процесс локализовался в пределах подкожной жировой клетчатки. При более тяжелых формах ХИМТ выявлены клинико-лабораторные проявления синдрома системной воспалительной реакции (АССР/СССМ, 1991) [8]. При этом в 197 (33,4%) случаях он имел выраженный характер (3 или 4 установленных признака). 58 (9,8%) пациентов поступили в состоянии тяжелого сепсиса с органо-системными дисфункциями (≥1 балла по шкале SOFA), из них 13 (2,2%) в возрасте от 63 до 80 лет с картиной септического шока.

Комплексное лечение РИНФ включало противовоспалительную и антибактериальную терапию (с учетом данных посева), коррекцию соматической патологии. Основой тактики была адекватная хирургическая санация патологического очага, по показаниям выполнялись этапные некрэктомии. Дальнейшее местное лечение ран проводили с использованием антибактериальных мазей на водорастворимой основе и йодофоров. В фазе регенерации дополнительно применяли раневые покрытия на основе коллагена, мази на стимулирующей основе, многокомпонентные сетчатые повязки.

В программу комплексного лечения всех пациентов с РИНФ была включена воздушно-плазменная технология. Источником ВПП служил аппарат «Плазон» - уникальная разработка российских ученых и конструкторов из МГТУ им. Н.Э.Баумана (рис. 1). Существенным отличием его является использование в качестве рабочего тела атмосферного воздуха, а также небольшие габариты, что значительно упрощает эксплуатацию, в том числе для нужд военно-полевой хирургии. Мы использовали следующие варианты воздействия:

- Хирургический режим (диссекция и коагуляция) - обработка гнойного очага сверхтемпературным факелом при максимальной мощности ВПП - на завершающем этапе некрэктомии (рис. 2,3). Ее цель - ускоренное очищение раневой полости от некрозов, подавление гноеродной микрофлоры, а также окон-

Таблица 1. Характеристика клинических наблюдений

Характер РИНФ, пролеченной с применением воздушно-плазменной технологии	Количество пациентов	Пол: М (Ж)	Средний возраст
Небольшие гнойно-некротические очаги ( $S < 50 \text{см}^2$ )	224	126 (98)	38,8±1,4
Обширные гнойные раны ( $S \geq 50 \text{см}^2$ )	179	87 (92)	45,8±3,3
Флегмонозно-некротическая рожа	186	73 (113)	57,2±3,1
Всего	589	286 (303)	55,6±2,0

чательный гемостаз. В режиме близкофокусной коагуляции расстояние от сопла плазматрона до поверхности гнойной раны составляло 7-10 мм, остальные параметры ВПП были такими же, что и в ходе плазменно-физической диссекции;

- Терапевтический режим - воздействие на раневую поверхность охлажденным до 38-40°C ВПП - интраоперационно и на протяжении всего послеоперационного периода для стимуляции регенераторных процессов в ране, купирования перифокального воспаления. В ходе обработки применялась специальная насадка на плазматрон, исключающая термическое поражение тканей (рис. 4). Оптимальную продолжительность одного сеанса плазмадинамической санации (НО-терапии) определяли основываясь на результатах ранее выполненных в клинике исследований [4]. Такая обработка проводилась ежедневно до полного разрешения гнойного воспаления и ликвидации раневого дефекта, в т.ч. после аутодермопластики и наложения вторичных швов (рис. 5).



Рис. 1. Воздушно-плазменный аппарат СКБВП/НО-01 «Плазон»

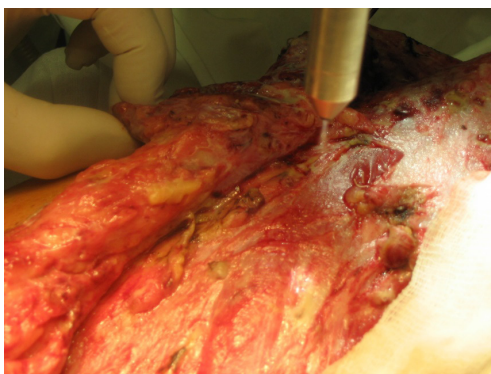


Рис. 2. Воздушно-плазменная обработка очага раневой инфекции (режим диссекции)

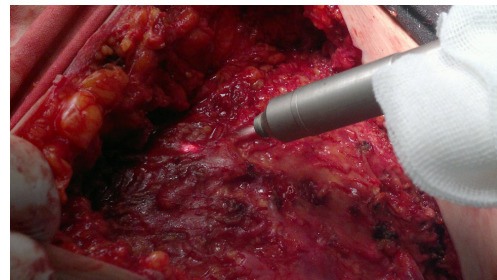


Рис. 3. Плазменно-физическая обработка очага раневой инфекции (режим коагуляции)



Рис. 4. Плазмадинамическая санация осложненной рожи в режиме NO-терапии



Рис. 5. Воздушно-плазменная обработка раны в режиме NO-терапии после наложения вторичных швов

**Результаты и их обсуждение.** Наши наблюдения показали, что глубина термического повреждения в зоне воздействия ВПП в режиме скальпеля в ходе хирургической обработки гнойно-некротических ран не превышает 2 мм. Концентрация колоссальной энергии в сравнительно небольшом пространстве манипулятора (плазматрона) в сочетании с мощным газодинамическим напором позволяла без какого-либо механического



Таблица 2. Основные показатели раневого процесса ( $p < 0,05$ )

Показатели	Контрольная группа (n=76)	Основная группа (n=81)
Полное очищение раны (сут.)	7,9±0,8	5,0±0,4
Появление грануляций (сут.)	7,5±1,0	4,9±0,5
100% - гранулирование раны (сут.)	19,1±0,4	10,5±0,7
Начало эпителизации (сут.)	14,8±2,0	8,5±1,0
Купирование перифокального воспаления (сут.)	16,7±0,5	13,0±2,2
Раневое отделяемое на 4-5 сутки (мл)	52±5	28,2±3
Скорость заживления по тесту Л.Н.Поповой к 14 суткам (%)	2,9±0,4	3,7±0,5
Сроки аутодермопластики (сут.)	18,9	12,8

Таблица 3. Клинические показатели при различных способах лечения РИНФ ( $p < 0,05$ )

Параметры	Контрольная группа (n=76)	Основная группа (n=81)
Интраоперационная кровопотеря (мл)	320±30	220±15
Число этапных некрэктомий (среднее)	4,1	2,9
Продолжительность операции (мин.)	14,6±4,4	18,9±3,0
Сроки купирования лихорадки (сут.)	7,3±0,8	5,3±0,6
Купирование болевого синдрома (сут.)	14,0±0,4	9,0±0,6
Летальность	8,1%	7,6%
Сроки стационарного лечения (сут.)	30,2	24,1

контакта легко и быстро рассекать девитализированные ткани путем их мгновенного испарения. Одновременно с диссекцией достигался окончательный гемостаз за счет термокоагуляции сосудов диаметром до 1,0 мм, а также стерилизация раневой полости. Вапоризация некротизированных тканей в очаге РИНФ обеспечивала перевод их в ожоговые. Заживление протекало быстрее и с более благоприятным исходом. При жидком гное и отсутствии в очаге некрозов плазменную обработку осуществляли только в режиме щадящей коагуляции. У лиц с острым гнойным гидраденитом, гнойным маститом и небольшими подкожными абсцессами экспозиция ВПП была минимальной (не более 5сек); предпочтение отдавали режимам близкофокусной коагуляции и плазманической санации.

Все полученные результаты сравнивали с таковыми у 290 пациентов, которым за аналогичный промежуток времени в условиях клиники проводилось общепринятое лечение в рамках медико-экономических стандартов. Для того, чтобы сравнение носило достоверный характер из основной и контрольной группы отобраны пациенты (76 из контрольной группы, 81 - из основной), у которых демографические данные, тяжесть основного заболевания, протяженность и глубина воспалительно-гнойного поражения мягких тканей были сопоставимы. Развитие грануляций и начало краевой эпителизации на фоне регулярной NO-терапии происходило достоверно раньше, чем в группе сравнения, что было особенно заметно у пациентов с обширными гнойными ранами (таблица 2).

Благодаря гидрофильности и хорошим сорбционными свойствам обугленного тканевого слоя достоверно уменьшалась раневая экссудация в послеоперационном периоде. В течение нескольких дней регрессировали паравульнарные воспалительные явления, к 6-8 суткам отмечали отчетливую раневую контракцию. Качественная акселерация всех фаз раневого процесса (в 1,5-1,8 раза по усредненным показателям) в ходе использования плазменной технологии подтверждалось данными цитологического и гистологического исследований.

В мазках-отпечатках после плазменной обработки наблюдали существенное уменьшение содержания лейкоцитов при более быстром, чем в контрольной группе, снижении дистрофически-измененных и распадающихся форм нейтрофилов. Морфологически уже к 5-6 суткам независимо от глубины и протяженности очага РИНФ отмечали постепенное усиление макрофагальной реакции и пролиферации фибробластов, новообразование капилляров, рост полноценной грануляционной ткани, что было наиболее заметно к 8-11 дню комплексного лечения. Микробиологические исследования доказали высокую эффективность плазменно-физической санации гнойных ран. Бактериальный титр раневого отделяемого у 487 (82,6%) пациентов уже на 2 сутки не превышал общепринятый безопасный уровень. Бактерицидный и бактериостатический эффекты обусловлены одномоментным влиянием несколь-

ких физико-химических факторов стимулирующего плазменно-физического воздействия, таких как озон, экзогенный оксид азота (II), «жесткое» ультрафиолетовое излучение, каскад физиотерапевтических эффектов.

Применение плазменного «скальпеля» у лиц с обширными гнойными ранами и осложненной рожой позволило сократить объем интраоперационной кровопотери на 30-35%, число этапных некрэктомий примерно в 1,6 раза (таблица 3). Аналогичные тенденции касаются и сроков купирования лихорадки. Показатель летальности не имел межгрупповых различий и был примерно одинаковым у той категории пациентов, которые поступали в стационар с клинической картиной септического шока и тяжелого сепсиса (все лица с некротизирующим фасциомиозитом). Средние сроки стационарного лечения также достоверно различались в пользу исследуемой группы.

На сегодняшний день плазменная хирургия сохраняет за собой целый ряд технологических преимуществ в сравнении с другими физическими способами воздействия на очаг РИНФ [2,5]. Так, эффективность лазерной энергии - довольно высокая при быстром рассечении тканей и обработке небольших по площади гнойных ран - оказывается недостаточной для санации обширных раневых поверхностей. Согласно некоторым данным, с помощью ВПП такие раны обрабатываются в 3-3,5 раза быстрее [3]. При электрохирургическом воздействии также трудно обеспечить качественную стерилизацию ран, а выполнение некрэктомии сопровождается формированием широкой зоны бокового некроза, что негативно сказывается на регенераторных процессах [3,9]. В послеоперационном периоде отмечался выраженный анальгезирующий эффект воздушно-плазменной обработки и меньшая потребность в наркотических анальгетиках (таблица 3), что, по мнению ряда авторов, это обусловлено амортизирующим действием термокоагуляционного слоя, а также возможной демиелинизацией терминальных нервных волокон, разрушением синапсов в зоне воздействия [4,7].

Определены конкретные механизмы положительного действия молекул экзогенного NO на раневую процесс: улучшение сосудистой трофики и тканевого обмена, прямое бактерицидное действие; усиление фагоцитоза бактерий и некротического детрита макро- и микрофагами, стимуляция секреции активированными макрофагами цитокинов, усиливающих, в свою очередь, рост фибробластов и капилляров в очаге РИНФ [1]. Установленная многочисленными исследованиями клиническая эффективность оксида азота (II), образующегося в ВПП, способствовала разработке принципиально нового метода лечения раневой патологии, получившего в России название NO-терапии или плазмадинамической NO-санации.

Бесспорными достоинствами воздушно-плазменной технологии следует считать «бесконтактность» процедур во всех режимах, отсутствие каких-либо побочных эффектов, полная «совместимость» с топическими лекарственными средствами, различного рода раневыми покрытиями, физическими методиками, а также простота эксплуатации установок.

**Выводы.** 1. Применение воздушно-плазменной технологии в режиме резки-коагуляции у пациентов с раневой инфекцией хорошо дополняет стандартную хирургическую обработку, обеспечивая ранний некролизис.

2. Плазмадинамическая санация NO-содержащим газовым потоком, будучи элементом комплексной терапии, ускоряет последующую репарацию постнекрэктомиических ран, позволяет значительно снизить степень микробной контаминации очага и сократить общие сроки лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гейниц А.В., Дербенев В.А., Толстых М.П., Воронов К.Е. Комплексное лечение рожки с использованием физических и физико-химических методов. М.: «Научный мир». - 2006.- 102.
2. Грушко В.И. Применение плазменного потока в комплексном лечении гнойных ран: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. - 2007. - 23с.
3. Липатов К.В., Сопромадзе М.А., Емельянов А.Ю., Канорский И.Д. Использование физических методов в лечении гнойных ран (обзор литературы). // Хирургия. Журнал им. Н.И.Пирогова. 2001.- №10. - С.56-61.
4. Османов Э.Г. Инновационные плазменно-хирургические технологии в комплексном лечении воспалительно-гнойных поражений мягких тканей: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М. - 2009. - 27с.
5. Шанавазов К.А. Аргоно-плазменная технология в хирургическом лечении облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей в стадии гнойно-некротических поражений: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. - 2014. - 24с.
6. Шляпников С.А. Хирургическая инфекция мягких тканей - старая хирургическая проблема // Инфекции в хирургии. 2003. №1. С.4-21.
7. Шулуток А.М., Османов Э.Г., Новикова И.В., Мансурова Г.Т., Горбачева О.Ю., Махмудов Э.М. Применение воздушно-плазменной технологии при поздних гнойно-воспалительных осложнениях инъекционной контурной пластики // Российский Медицинский журнал. - 2015. - том 21. - №3. - 26-29.
8. Ahrenholz D.H. Necrotizing fasciitis and other infections // Intensive Care Medicine. Boston, Little, Brown. - 1991. - 1334p.
9. Chan C., Hotouras A., Chaudry O. The Use of PlasmaJet as a Novel Technique for Tissue Dissection in Complex Abdominal Surgery. *Dis. Colon Rectum.* - 2015. - №58 (7): p.402-3.
10. Harbrecht B.G., Nash N.A. Necrotizing Soft Tissue Infections: A Review // *Surg. Infect. (Larchmt).* - 2016. - №17 (5): P.503-509.
11. Keeley J.L, Kaji A.O, Kim D.Y, Yan H.W, Putnam B.A. Predictors of mortality in necrotizing soft tissue infection // *Am. Surg.* - 2014. - №80 (10). - P.989-993.
12. Montravers P.S, Snauwaert A.D, Welsch C.I. Current guidelines and recommendations for the management of skin and soft tissue infections // *Curr. Opin. Infect. Dis.* - 2016. - №29 (2): P.131-138.

## SUMMARY

### AIR-PLASMA TECHNOLOGY IN COMPLEX TREATMENT OF WOUND INFECTION

Shulutko A., Osmanov E., Gogokhia T., Natroshvili A., Macharadze A.

*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russia*

The purpose of the study: optimization of the results of treatment of wound infection.

The authors analyze the results of treatment of 589 patients with wound infection for the period from 2004 to 2017. During the surgical treatment and further local therapy, air-plasma technology was used. The results were compared with those in 280 people, treated according to the standard method (control group). It was found, that air-plasma treatment of the suppurative inflammation of soft tissue in the cutting-coagulation regime significantly accelerates the necrolysis of the wound surface and the subsequent repair of postnecrotic wounds (in 1.5-1.8 times), regardless of the level and extent of the lesion of the integumentary tissues. Plasmodynamic sanitation in the NO-therapy regimen stimulates the growth of granulation tissue and processes of epithelialization, allows to significantly reduce the degree of microbial contamination of the focus, and also to shorten the period of inpatient treatment. Similar trends relate to other important indicators.

In patients with wound infection of soft tissue, air-plasma technology must be included in the complex of local therapeutic measures.

**Keywords:** air-plasma flows, plasma technology, wound infection, NO-therapy.

## РЕЗЮМЕ

### ВОЗДУШНО-ПЛАЗМЕННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ

Шулутко А.М., Османов Э.Г., Гогохия Т.Р., Натрошвили А.Г., Мачарадзе А.Д.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, Россия*

Целью исследования явилась оценка эффективности воздушно-плазменной технологии в лечении с раневой инфекции.

Проанализированы результаты лечения 589 пациентов с раневой инфекцией за период с 2004 по 2017 гг. В ходе хирургической обработки и дальнейшей местной терапии применяли воздушно-плазменную технологию в различных режимах. Полученные результаты сравнивали с таковыми у 280 человек, пролеченных по общепринятой методике (контрольная группа).

Выявлено, что воздушно-плазменная обработка гнойно-воспалительного очага в режиме резки-коагуляции достоверно ускоряет очищение раневой поверхности и последующую репарацию постнecкpотомических ран в 1,5-1,8 раза независимо от уровня и протяженности поражения покровных тканей. Плазмодинамическая санация в режиме NO-терапии стимулирует рост грануляционной ткани и процессы краевой эпителизации, позволяет существенно снизить степень микробной контаминации очага и сократить сроки стационарного лечения. Аналогичные тенденции касаются других значимых показателей.

У пациентов с раневой инфекцией воздушно-плазменная технология должна входить в обязательный комплекс локальных лечебных мероприятий.

## რეზიუმე

ჰაერ-პლაზმური ტექნოლოგია ჭრილობის ინფექციის კომპლექსური მკურნალობაში

ა. შულუტკო, ე. ოსმანოვი, ტ. გოგოხია, ა. ნატროშვილი, ა. მაჭარაძე

მოსკოვის ი. სეჩენოვის სახ. სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, მოსკოვი, რუსეთი

კვლევის მიზანი - ჭრილობის ინფექციის მკურნალობის შედეგების ოპტიმიზაცია ჰაერ-პლაზმური ტექნოლოგიით.

გაანალიზებულია ჭროლობის ინფექციით 589 პაციენტის ჰაერ-პლაზმური ტექნოლოგიით მკურნალობის შედეგები (2004-2017 წწ.). ჰაერ-პლაზმური ტექნოლოგია გამოყენებული იყო სხვადასხვა რეჟიმებში. მიღებული შედეგები შედარებულია 280 პაციენტის ტრადიციული მეთოდებით მკურნალობის შედეგებთან (საკონტროლო ჯგუფი).

გამოვლინდა, რომ ჩირქოვან-ანთებითი კერის ჰაერ-პლაზმური დამუშავება ტრა-კოაგულაციის რეჟიმში საგრძნობლად აჩქარებს ჭრილობის ზედაპირის დასუფთავებას და პოსტნecრეკტომული ჭრილობის შემდგომ რეპარაციას ზედაპირული ქსოვილების დაზიანების დონის და ხანგრძლივობისგან დამოუკიდებლად. პლაზმადინამიური სანაცია NO-თერაპიის რეჟიმში ახდენს გრანულაციური ქსოვილის ზრდის და ბოლოების ეპითელიზაციის პროცესების სტიმულირე-

ბას, იძლევა კერის მიკრობული კონტამინაციის ხარისხის დაქვეითების საშუალებას, ამცირებს სტაციონარში მკურნალობის ვადებს. ასეთივე ტენდენციები აღენიშნება სხვა მნიშვნელოვანი მანქანების მიმართ. ჩატარებული კვლევის

შედეგებზე დაყრდნობით ავტორებს გამოტანილი აქვთ დასკვნა, რომ ჰაერ-პლაზმური ტექნოლოგია უნდა შედიოდეს ჭრილობის ინფექციით პაციენტების ლოკალური სამკურნალო ღონისძიებების აუცილებელ კომპლექსში.

---

## FORMATION OF BIOFILMS BY BACTERIA EXCRETED FROM CHRONIC ANAL FISSURE AND THE INFLUENCE OF THE DIRECT CURRENT ELECTRIC FIELD ON THEM

<sup>1</sup>Kozlovska I., <sup>2</sup>Kornaga S., <sup>3</sup>Kykhtyn M., <sup>4</sup>Horiuk Y., <sup>1</sup>Karatieieva S.

<sup>1</sup>Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi;

<sup>2</sup>I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ministry of Healthcare of Ukraine;

<sup>3</sup>Ternopil Ivan Puluji National Technical University; <sup>4</sup>State Agrarian and Engineering University in Podilya, Ukraine

The studies performed in recent years evidence that chronic inflammatory processes are caused by microorganisms found in biofilms, and their traditional antibacterial therapy is ineffective [5,9]. It is associated with the fact that microorganisms formed into biofilms are 50-100 times resistant as much to antibacterial drugs than those planktonic forms [7,8]. It is especially important for practical medicine that bacteria in biofilms have better survival in the presence of aggressive substances, immune protective factors and pharmacological agents [2,10]. Protective properties of exopolysaccharide biofilm matrix and peculiarities of bacterial consortium cells are considered to form the basis for better survival of the bacterial formation (exopolymer protect bacterial cells physically against bacteriophages, antibodies, phagocytes, prevents antibiotic absorption, and phagocytic activity of macrophages) [1,6]. In addition, bacteria in biofilm can exchange plasmids containing genes responsible for their resistance to antibiotics [3,4].

Chronic anal fissures (CAF) are considered to be the illness with chronic course and characterized by frequent relapses [1]. Although today the attention of researchers concerning the role of biofilm bacterial forms in pathogenesis of this pathology remains inadequate. Therefore, investigation of the specific microflora content of anal fissures, ability of isolated bacteria to form biofilm and elaboration of effective methods of bactericidal effect on bacteria formed into biofilms are important in treatment of CAF.

The objective of the work was to investigate biofilms density of bacteria isolated from chronic anal fissures and to determine the current density possessing an optimal bactericidal effect on bacteria and destruct microbial biofilms.

**Materials and methods.** The qualitative and quantitative content of microflora of 107 CAF was determined, bacterial inoculation was made no later than 1-2 hours after the material had been taken. To isolate staphylococci lavages from wounds were inoculated into the medium

*BD Baird-Parker Agar*. Isolation of enterococci was made on the medium Bile Esculin Azide Agar (HiMedia, Germany). Bacteria were identified by Sherman test, carbohydrate fermentation, and according to the tests to identify bacteria. Enterobacteria (*Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella* etc.) were inoculated on Endo, Levin and Ploskirev media. The cultures were incubated in media in the thermostat at the temperature of 37<sup>o</sup> C during 24 hours. Pure cultures were identified considering biochemical tests described in Berdgi identification guide. *Pseudomonas aeruginosa* were isolated on the medium with 0,2% content of N-cetylpyridinium chloride.

Microbiological examination assumed investigation of microorganism ability to form pathological biofilms on the surface of CAF and determination of biofilms density. Classical disk-diffuse Kirby-Bauer method was used to determine sensitivity of planktonic microorganisms to antibiotics. Sensitivity of planktonic microorganisms to antiseptics was determined according to the method suggested (Patent of Ukraine for useful invention № 91492) [11]. Electrophoresis effect with different current strength on bacteria formed into biofilms was investigated in the following way. Microbe biofilms were inoculated in sterile disposable Petri dishes followed by washing out planktonic cells by means of phosphate buffer. Then 5 cm<sup>3</sup> of sterile 0,9% sodium chloride solution was added to the dishes with biofilms, electrodes were inserted and the device for electrophoresis "Potok-1" was connected to. Duration was 60 minute, current strength from 0,025 to 0,1 mA/cm<sup>2</sup> of Petri dish square. After electrophoresis action stopped, physiological solution from Petri dishes was poured out, delaminated microbe biofilms were washed with sterile phosphate buffer. Then 5cm<sup>3</sup> of sterile 0,9% sodium chloride solution was added and microbe biofilm was carefully washed out from the walls and bottom of the dish by means of a sterile pad. 1,0 cm<sup>3</sup> of suspension was taken from the dishes, a series of tenfold dilution was



Table 1. Formation of microbial biofilms by microorganisms, which are isolated from chronic anal fissure

Microorganisms have been investigated	Number of microorganisms (%) which formed biofilms of different densities		
	Low density	Average density	High density
<b>Bacteria isolated in monoculture</b>			
Escherichia coli	–	–	100
Pseudomonas aeruginosa	–	–	100
<b>Bacteria isolated in mixed form</b>			
Escherichia coli	–	32,7	74,5
Pseudomonas aeruginosa	–	21,6	80,3
Enterococcus faecalis	–	27,5	72,0
S. aureus	–	16,9	83,7
Coagulase-negative staphylococcus	13,8	40,0	46,7
Klebsiella spp.	–	50,3	50,2
Enterobacter spp.	–	33,9	67,3
Citrobacter spp.	–	33,1	67,3
Proteus spp.	10,1	30,5	72,5

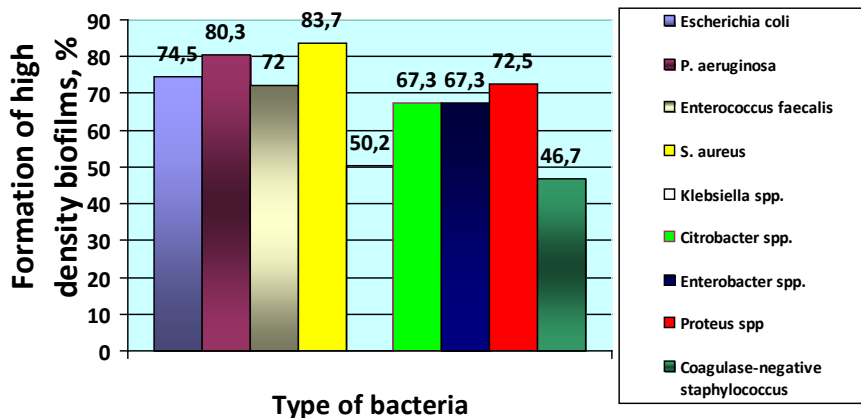


Fig. 1 Formation of high density biofilms by microbial associations isolated from chronic anal fissures, n=127

prepared, 1,0 cm<sup>3</sup> of every dilution was inoculated into Petri dishes, filled with agar and incubated at the temperature of 37<sup>0</sup> C during 48 hours to determine the amount of bacteria. To determine electrophoresis effect with the antiseptic Dioxisol on microbe biofilms the studies were carried out similar to the described above, only the electrodes were inserted in Petri dishes containing Dioxisol, but not physiological solution.

**Results and their discussion.** Bacteria isolated from CAF in monoculture manifest stronger adhesive properties and exopolysaccharide biofilm matrix in them is denser, which might provide better protection for microbe cells against environmental factors and antimicrobial drugs. Bacteria isolated from CAF in monoculture – Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa, in 100% of cases formed dense microbe biofilms. Bacteria in

mixed condition formed biofilms of high density – from 50,0% to 83,3%, average density – from 16,9% to 50,3%, low density – from 10,1% to 13,8% (Table 1).

Bacteria present in anal fissures in the form of association make up biofilms of high density mainly (Fig. 1). The strains *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus spp.* and *Escherichia coli* form biofilms of high density practically in the same amount from 72,0±2,4 to 83,7±3,1 %. Enterobacteria *Enterobacter spp.* and *Citrobacter spp.* form similar amount of biofilms of high density – 67,3±2,1 %. Biofilms of high density in the smallest amount were formed by *Klebsiella spp.* – 50,2±1,8 % and Coagulase-negative staphylococcus – 46,7±1,5%. Formation of biofilms of high density by bacteria isolated from CAF is indicative of intensified adhesive properties and production of a considerable amount of exopolysaccha-

Table 2. The efficacy of antimicrobial agents on bacteria that formed in the biofilm

Antimicrobials drugs	Number of cells isolated from bacteria in a biofilm, lg KFU/sm <sup>2</sup>							
	<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>	
	To the action of the drug	After the action of the drug	To the action of the drug	After the action of the drug	To the action of the drug	After the action of the drug	To the action of the drug	After the action of the drug
Cefipim 30 mg/l	6,61± 4,12	2,80± 1,31	6,49± 4,15	2,78± 1,47	6,67± 4,22	2,85± 1,27	6,71± 4,35	2,89± 1,28
Ceftazidime 30mg/l	6,61± 4,12	2,31± 1,38	6,49± 4,15	2,21± 1,20	6,67± 4,22	2,32± 1,21	6,71± 4,35	2,78± 1,49
Ceftriaxone 30 mg/l	6,61± 4,12	2,12± 1,29	6,49± 4,15	2,88± 1,31	6,67± 4,22	2,66± 1,42	6,71± 4,35	2,78± 1,47
Gentamicin 10mg/l	6,61± 4,12	2,58± 1,48	6,49± 4,15	2,32± 1,28	6,67± 4,22	2,91± 1,55	6,71± 4,35	2,92± 1,58
Gatifloxacin 5 mg/l	6,61± 4,12	1,55± 0,17	6,49± 4,15	0	6,67± 4,22	0	6,71± 4,35	1,40± 0,25
Levofloxacin 5 mg/l	6,61± 4,12	1,07± 0,37	6,49± 4,15	1,14± 0,61	6,67± 4,22	0	6,71± 4,35	1,03± 0,29
Dioxisol solution	6,61± 4,12	2,81± 1,62	6,49± 4,15	2,79± 1,57	6,67± 4,22	2,77± 1,54	6,71± 4,35	2,83± 1,70
Octenisept 1:1	6,61± 4,12	3,49± 1,95	6,49± 4,15	2,87± 1,81	6,67± 4,22	2,87± 1,76	6,71± 4,35	2,89± 1,74
Povidon-Iodine 10%	6,61± 4,12	3,72± 2,07	6,49± 4,15	3,29± 1,91	6,67± 4,22	2,99± 2,01	6,71± 4,35	3,18± 2,12
Decasan 0,02%	6,61± 4,12	3,70± 2,28	6,49± 4,15	2,92± 1,35	6,67± 4,22	3,12± 1,64	6,71± 4,35	3,19± 2,11
Chlorhexidini 0,05%	6,61± 4,12	3,51± 1,77	6,49± 4,15	2,95± 1,29	6,67± 4,22	3,03± 1,57	6,71± 4,35	3,04± 2,07

ride matrix providing their high resistance.

We have also examined the effect of antimicrobial drugs on bacteria formed into biofilms. The study includes the strains of bacteria, which planktonic forms were sensitive to antibiotics in disk-diffuse Kirby-Bauer method and antiseptics in alveolar method. Antimicrobial drugs decreased the number of bacteria in microbe biofilm considerably, although viable microbe cells were still found (Table 2). The cells *P. aeruginosa* and *E. faecalis* appeared to be the most protected by biofilm matrix. Fluoroquinolones *Gatifloxacin* and *Levofloxacin* produced the best effect on the cells in biofilms from the examined antimicrobial drugs. Their molecular mass seems to be so low that it can penetrate through the pores and canals of biofilm to microbe cells.

The majority of administered antiseptics (Octenisept, Decasan, Povidon-Iodine, Chlorhexidini) did not produce considerable bactericidal effect on biofilm bacteria as well. At the same time, Dioxisol solution produced the best effect on biofilm bacteria from all the antiseptics, and the number of viable microbe cells decreased to lg 2,81±1,62 per cm<sup>2</sup> of biofilm square.

The results obtained are indicative of that the program of treatment of patients with CAF should include not only antibacterial therapy targeted on the microflora in the defect of the rectal mucosa, but new methods of etiopathogenic effect on bacteria available and formed into biofilms of high density. Considering the results of the study in a comprehensive treatment of CAF we have suggested to apply intra-tissue electrophoresis with antiseptic solution with preliminary detection of sensitivity of biofilm bacteria to the latter.

To determine the optimal current strength essential for galvanization of CAF the effect of direct current electric field of different density was examined. The action of direct current electric field with the density of 0,025 mA/cm<sup>2</sup> did not produce bactericidal effect on biofilm cells, although ruined biofilm matrix, which density decreased in 1,5 times as much in an average (Table 3). In case the current density increased to 0,05-0,1 mA/cm<sup>2</sup> biofilm matrix was ruined more intensively, its density decreased from high to average and low (Table 4 and 5). It killed bacteria, their number decreased in the ruined biofilm from 10,7 to 56,4 times (p<0,05).

Table 3. The number of microorganisms in a biofilm and the density of microbial biofilms before and after the action of an electric field of a direct current with a current density of 0.025 mA/cm<sup>2</sup>, M ± m, n=24

	Number of bacteria on 1 cm <sup>2</sup> of biofilm area		Density of microbial biofilms, units	
	to the action of the electric field	after the action of the electric field	to the action of the electric field	after the action of the electric field
Ps. aeruginosa	(5,25±0,11)*10 <sup>6</sup>	(5,13±0,09)*10 <sup>6</sup> p>0,05	1,61±0,10	1,17±0,05 p< 0,01
S. aureus	(6,63±0,23)*10 <sup>6</sup>	(6,78±0,21)*10 <sup>6</sup> p>0,05	1,72±0,10	1,11±0,05 p< 0,01
E. coli	(3,02±0,29)*10 <sup>6</sup>	(3,14±0,27)*10 <sup>6</sup> p>0,05	1,37±0,08	0,92±0,04 p< 0,01
Enterococcus spp.	(5,17±0,24)*10 <sup>6</sup>	(5,01±0,21)*10 <sup>6</sup> p>0,05	1,77±0,10	1,18±0,06 p< 0,01
Enterobacter spp.	(1,87±0,11)*10 <sup>6</sup>	(1,79±0,11)*10 <sup>6</sup> p>0,05	1,27±0,07	0,78±0,04 p< 0,01

note: p is the degree of probability of the difference in the indicator for control

Table 4. The number of microorganisms in a biofilm and the density of microbial biofilms before and after the action of an electric field of a direct current with a current density of 0.05 mA/cm<sup>2</sup>, M ± m, n=24

	Number of bacteria on 1 cm <sup>2</sup> of biofilm area		Density of microbial biofilms, units	
	to the action of the electric field	after the action of the electric field	to the action of the electric field	after the action of the electric field
Ps. aeruginosa	(6,35±0,17)*10 <sup>6</sup>	(1,47±0,11)*10 <sup>6</sup> p<0,001	1,72±0,10	1,07±0,04 p<0,01
S. aureus	(7,26±0,26)*10 <sup>6</sup>	(5,70±0,20)*10 <sup>5</sup> p<0,001	1,78±0,11	1,04±0,04 p<0,01
E. coli	(3,15±0,17)*10 <sup>6</sup>	(1,12±0,09)*10 <sup>6</sup> p<0,001	1,44±0,07	0,89±0,05 p≤0,001
Enterococcus spp.	(6,40±0,19)*10 <sup>6</sup>	(1,78±0,12)*10 <sup>6</sup> p<0,001	1,85±0,09	1,11±0,03 p<0,001
Enterobacter spp.	(2,24±0,13)*10 <sup>6</sup>	(8,77±0,22)*10 <sup>4</sup> p<0,001	1,33±0,06	0,68±0,04 p<0,001

note: p is the degree of probability of the difference in the indicator for control

Table 5. The number of microorganisms in a biofilm and the density of microbial biofilms before and after the action of an electric field of a direct current with a current density of 0.1 mA/cm<sup>2</sup>, M ± m, n=24

	Number of bacteria on 1 cm <sup>2</sup> of biofilm area		Density of microbial biofilms, units	
	to the action of the electric field	after the action of the electric field	to the action of the electric field	after the action of the electric field
Ps. aeruginosa	(4,64±0,17)*10 <sup>6</sup>	(4,05±0,12)*10 <sup>5</sup> p<0,001	1,77±0,10	0,91±0,04 p<0,001
S. aureus	(6,18±0,24)*10 <sup>6</sup>	(2,93±0,11)*10 <sup>5</sup> p<0,001	1,70±0,07	0,70±0,03 p<0,001
E. coli	(4,07±0,15)*10 <sup>6</sup>	(3,81±0,10)*10 <sup>5</sup> p<0,001	1,40±0,06	0,54±0,03 p<0,001
Enterococcus spp.	(5,70±0,19)*10 <sup>6</sup>	(4,46±0,12)*10 <sup>5</sup> p<0,001	1,82±0,08	0,73±0,03 p<0,001
Enterobacter spp.	(2,93±0,11)*10 <sup>6</sup>	(5,21±0,18)*10 <sup>3</sup> p<0,001	1,36±0,06	0,48±0,02 p<0,001

note: p is the degree of probability of the difference in the indicator for control

Table 6. The number of bacteria in a biofilm before and after the action of an electric field of direct current with dioxisol with different current density,  $M \pm m$ ,  $n=24$

Type of bacteria	Number of bacteria per 1 cm <sup>2</sup> of biofilm area	The current density is 0.025 mA/cm <sup>2</sup>	The current density is 0.05 mA/cm <sup>2</sup>	The current density is 0.1 mA/cm <sup>2</sup>
P. aeruginosa	(5,44±0,18)*10 <sup>6</sup>	(1,9±0,15)*10 <sup>2*</sup>	Not selected	Not selected
S. aureus	(6,28±0,19)*10 <sup>6</sup>	(2,7±0,12)*10 <sup>1*</sup>	Not selected	Not selected
E. coli	(4,32±0,16)*10 <sup>6</sup>	(3,5±0,15)*10 <sup>1*</sup>	Not selected	Not selected
Enterococcus spp.	(5,11±0,17)*10 <sup>6</sup>	(1,6±0,08)*10 <sup>2*</sup>	Not selected	Not selected
Enterobacter spp.	(2,74±0,12)*10 <sup>6</sup>	Not selected	Not selected	Not selected

note: \*  $p < 0.001$  - relative to the initial number

Table 6 presents the results of the study of direct current electric field (DCEF) effect with Dioxisol with different density of the current on microbial biofilms. The study includes the strains of bacteria, which planktonic forms were sensitive to Dioxisol in alveolar method.

Application of DCEF with antiseptic Dioxisol on microbe biofilms is effective. Bacteria were not excreted in case of current density 0,05-0,1 mA/cm<sup>2</sup> of biofilm square. It is indicative of biofilm destruction, good contact of antiseptic solution with microbe cells and manifestation of bactericidal action.

Therefore, laboratory microbiological examinations indicate that application of electrophoresis with Dioxisol in the treatment of CAF is promising and topical since during intra-tissue electrophoresis with the current strength of 0,05–0,1 mA/cm<sup>2</sup> degradation of biofilm matrix by means of DCEF prevents microbe cells from protection, and the use of antibacterial drug ensures stable bactericidal effect.

**Conclusion.** Microorganisms-agents of the inflammatory process on the mucous membrane of chronic anal fissures were found to be in the formed biofilm of high density preventing the action of antibacterial means. The antibiotic fluoroquinolones and antiseptic Dioxisol were found to produce the best effect on biofilm forms of bacteria. Although none of the examined antibacterial drugs possessed a complete bactericidal action, since bacteria were protected by biofilm matrix of high density causing resistance to pharmacological agents. Considering the mentioned above we recommend to supplement a comprehensive antibacterial therapy of CAF with intra-tissue electrophoresis with the current density 0,05-0,1 mA/cm<sup>2</sup> with antiseptic, and antibacterial therapy should be administered after preliminary detection of sensitivity of isolated microorganisms in biofilm from CAF to antibiotics and antiseptics.

## REFERENCES

1. Козловська І.М. Роль мікробної біоплівки в патогенезі перебігу ускладнених форм хронічної анальної тріщини // Галицький лікарський вісник. 2015; 1(22): 35-38.
2. Петухов В.И., Окулич В.К., Плотников Ф.В. Особенности клинического течения раневого процесса в зависимости от способности возбудителя формировать биопленку // Вестник Витебского государственного университета. 2013; 4(12): 100-105.
3. Плотников Ф.В. Комплексное лечение пациентов с гнойными ранами в зависимости от способности микроорганизмов-возбудителей формировать биопленку // Новости хирургии. 2014; 5(22): 375-381.
4. Atkinson S., Williams P. Quorum sensing and social networking in the microbial world // J. R.Soc. Interface. 2009; 6: 959-978. doi: 10.1098/rsif.2009.0203.
5. Ciofu O., Rojo-Molinero E., Macià M.D., Oliver A. Antibiotic treatment of biofilm infections // APMIS. 2017; 125(4): 304-319. doi: 10.1111/apm.12673.
6. Fuente-Núñez C., Reffuveille F., Hancock L. Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies // Current Opinion in Microbiology. 2013; 5(16): 580-589.
7. Hoibya N., Bjarnsholt T., Givskov M. Antibiotic resistance of bacterial biofilms // International Journal of Antimicrobial Agents. 2010; 4(35): 322-332.
8. Kukhtyn M., Berhilevych O., Kravcheniuk K., Shynkaruk O., Horiuk Y. Formation of biofilms on dairy equipment and the influence of disinfectants on them // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. 2017; 5(11): 26-33.
9. Morten A., Özge E., Steffen Eickhardt Kasper Kragh. Bacterial biofilm formation and treatment in soft tissue fillers // Pathogens and Disease. 2014; 70 (3): 339-346.
10. Zhao Ge, Marcia L. Biofilms and Inflammation in Chronic Wounds // Advances in Wound Care. 2013; 2(7): 389-399.
11. Пар. 91492 Україна, МПК G01N 33/00 (2014.01). Спосіб визначення чутливості мікроорганізмів до антисептиків / Козловська І.М., Кухтин М.Д., Іфтодій А.Г.; заявник Буквинський державний медичний університет. – № u2014 00070 від 08.01.2014; опубл. 10.07.2014, Бюл. № 13.



## SUMMARY

### FORMATION OF BIOFILMS BY BACTERIA EXCRETED FROM CHRONIC ANAL FISSURE AND THE INFLUENCE OF THE DIRECT CURRENT ELECTRIC FIELD ON THEM

<sup>1</sup>Kozlovska I., <sup>2</sup>Kornaga S., <sup>3</sup>Kykhtyn M., <sup>4</sup>Horiuk Y.,  
<sup>1</sup>Karatieieva S.

<sup>1</sup>Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi; <sup>2</sup>I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ministry of Healthcare of Ukraine; <sup>3</sup>Ternopil Ivan Puluj National Technical University; <sup>4</sup>State Agrarian and Engineering University in Podilya, Ukraine

Chronic anal fissures (CAF) are considered to be the illness with chronic course and characterized by frequent relapses. Although today the attention of researchers concerning the role of biofilm bacterial forms in pathogenesis of this pathology remains inadequate. Therefore we investigated biofilms density of bacteria isolated from CAF and determined the current density possessing an optimal bactericidal effect on bacteria and destruct microbial biofilms.

Bacteria isolated from CAF in monoculture manifest stronger adhesive properties and exopolysaccharide biofilm matrix in them is denser, which might provide better protection for microbe cells against environmental factors and antimicrobial drugs. To determine the optimal current strength essential for galvanization of CAF the effect of direct current electric field of different density was examined. The action of direct current electric field with the density of 0,025 mA/cm<sup>2</sup> did not produce bactericidal effect on biofilm cells, although ruined biofilm matrix, which density decreased in 1,5 times as much in an average. In case the current density increased to 0,05-0,1 mA/cm<sup>2</sup> biofilm matrix was ruined more intensively, its density decreased from high to average and low. It killed bacteria, their number decreased in the ruined biofilm from 10,7 to 56,4 times.

The antibiotic fluoroquinolones and antiseptic Di-oxisolum were found to produce the best effect on biofilm forms of bacteria. Although none of the examined antibacterial drugs possessed a complete bactericidal action, since bacteria were protected by biofilm matrix of high density causing resistance to pharmacological agents. Considering the mentioned above we recommend to supplement a comprehensive antibacterial therapy of CAF with intra-tissue electrophoresis with the current density 0,05-0,1 mA/cm<sup>2</sup> with antiseptic, and antibacterial therapy should be administered after preliminary detection of sensitivity of isolated microorganisms in biofilm from CAF to antibiotics and antiseptics.

**Keywords:** Chronic anal fissures, bacterial biofilms, biofilms density, antibacterial drugs, antibacterial therapy.

## РЕЗЮМЕ

### ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ХРОНИЧЕСКИХ АНАЛЬНЫХ ТРЕЩИН, И ВЛИЯНИЕ НА НИХ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

<sup>1</sup>Козловская И. М., <sup>2</sup>Корнага С.И., <sup>3</sup>Кухтин Н.Д.,  
<sup>4</sup>Горюк Ю.В., <sup>1</sup>Каратеева С.Ю.

<sup>1</sup>Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», Черновцы; <sup>2</sup>ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины», Тернополь; <sup>3</sup>Тернопольский национальный технический университет им. Ивана Пулюя; <sup>4</sup>Подольский государственный аграрно-технический университет, Украина

Для лечения хронической анальной трещины (ХАТ) весьма значимыми являются изучение видового состава микрофлоры анальных трещин, способность изолированных бактерий формировать биопленки и разработка эффективных методов бактерицидного воздействия на бактерии в биопленках.

Для определения оптимальной силы тока, необходимой для гальванизации ХАТ, рассмотрен эффект электрического поля постоянного тока различной плотности. Действие электрического поля постоянного тока плотностью 0,025 мА/см<sup>2</sup> не влияло бактерицидно на клетки биопленки, однако разрушало ее матрикс, плотность которого снижалась, в среднем, в 1,5 раза. С повышением плотности тока до 0,05-0,1 мА/см<sup>2</sup> интенсивнее разрушался матрикс биопленки, его плотность снижалась с высоких до средних и затем низких значений, что вызывало гибель бактерий, вследствие чего их количество в разрушенной биопленке уменьшалось с 10,7 до 56,4 раза. Из исследованных антибиотиков на бактерии в биопленках эффективнее влияли фторхинолоны, а из антисептиков – раствор диоксизоль. Однако, ни один из исследованных антибактериальных препаратов не проявлял полноценного бактерицидного действия, поскольку бактерии были защищены матриксом биопленки высокой плотности, что приводило к резистентности к лекарственным средствам.

Учитывая вышеизложенное, авторы рекомендуют в комплексном лечении ХАТ, наряду с антибактериальной терапией, проводить внутритканевой электрофорез плотностью тока 0,05-0,1 мА/см<sup>2</sup> в сочетании с антисептиком, а антибактериальную терапию назначать предварительно определив чувствительность выделенных микроорганизмов в биопленке из ХАТ к антибиотикам и антисептикам.

## რეზიუმე

ბიოაპკების წარმოქმნა ანუსის ქრონიკული ნაპრალეებიდან გამოყოფილი ბაქტერიების მიერ და ელექტროფორეზის გავლენა მათზე

<sup>1</sup>ნ. კოზლოვსკაია, <sup>2</sup>ს. კორნაგა, <sup>3</sup> ნ.კუხტიანი,  
<sup>4</sup>ი. გორიუკი, <sup>1</sup>ს. კარატევეა

<sup>1</sup>ბუკოვინის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ჩერნოვცი; <sup>2</sup>ტერნოპილის ი.გორბახევსკის სახელობის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>3</sup>ტერნოპილის ივან პულიუიას სახელობის ეროვნული ტექნიკური უნივერსიტეტი; <sup>4</sup>პოდოლსკის სახელმწიფო აგრარულ-ტექნიკური უნივერსიტეტი, უკრაინა

ანუსის ქრონიკული ნაპრალეების (აქნ) მკურნალობისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს ანუსის ნაპრალეების მიკროფლორის სახეობრივი შემადგენლობის შესწავლას, იზოლირებული ბაქტერიების მიერ ბიოაპკის წარმოქმნის უნარის განსაზღვრა და ბიოაპკებში ბაქტერიებზე ეფექტური ბაქტერიციდული მოქმედების მეთოდების შემუშავებას.

აქნ-ის გაღვანიზაციისათვის აუცილებელია დენის ოპტიმალური ძალის განსაზღვრისათვის განხილული იყო მუდმივი დენის სხვადასხვა სიმ-

კვრის ელექტრული ველის ეფექტი. 0,025 მა/სმ<sup>2</sup> სიმკვრივის ელექტრული ველი ბიოაპკის უჯრედებზე ბაქტერიციდულ მოქმედებას არ ავლენდა, თუმცა, შლიდა ბიოაპკის მატრიქსს, რომლის სიმკვრივე მცირდებოდა 1,5-ჯერ. დენის სიმკვრივის ზრდასთან ერთად 0,05-0,1 მა/სმ<sup>2</sup>-მდე, ბიოაპკის მატრიქსი უფრო ინტენსიურად იშლებოდა, მისი სიმკვრივე მცირდებოდა მაღლიდან საშუალომდე და მცირემდე. ეს იწვევდა ბაქტერიების კვდომას და მათ შემცირებას დაშლილ ბიოაპკში 10,7-56,4-ჯერ.

გამოკვლევული ანტობიოტიკებიდან უკეთ მოქმედებდა ფთორქინოლონები, ანტისეპტიკური საშუალებებიდან – დიოქსიზოლის ხსნარი. თუმცა, არც ერთ გამოკვლევულ ანტიბაქტერიულ პრეპარატს არ აქვს სრულფასოვანი ბაქტერიციდული ეფექტი, რადგანაც მაღალი სიმკვრივის ბიოაპკის მატრიქსით დაცული ბაქტერიები რეზისტენტულია სამკურნალწამლო საშუალებებისადმი. ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით, ავტორებს მიზანშეწონილად მიაჩნიათ აქნ-ის კომპლექსურ მკურნალობაში, ანტიბაქტერიულ თერაპიასთან ერთად, ანტისეპტიკური საშუალებით კანშიდა ელექტროფორეზის ჩატარება 0,05-0,1 მა/სმ<sup>2</sup> დენის სიმკვრივით, ხოლო ანტიბაქტერიული თერაპიის დაწყება რეკომენდებულია აქნ-დან გამოყოფილი მიკროორგანიზმების ანტობიოტიკებისა და ანტისეპტიკური საშუალებების მიმართ მგრძობილობის წინასწარი განსაზღვრის შემდგომ.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАСШИРЕННО-КОМБИНИРОВАННЫХ ОПЕРАЦИЙ НА ЗОНАХ ПРЕ- И ПАРАТРАХЕАЛЬНОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ РАКЕ ПОДСКЛАДОЧНОГО ОТДЕЛА ГОРТАНИ

Дабрундашвили З.Г., Бахтуридзе Д.Г., Мардалишвили К.М.

*Онкологический научно-исследовательский центр Грузии, Тбилиси, Грузия*

Несмотря на последние достижения в лечении и диагностике злокачественных опухолей головы и шеи, проблема метастазирования в пре- и паратрахеальные лимфотические узлы при раке подскладочного отдела гортани по сей день остается актуальной, поскольку метастазы являются основной причиной гибели пациентов [2]. В один и тот же регионарный лимфатический узел лимфа может поступать из нескольких (5-7) органов, подобные узлы называются общими или регионарными для нескольких органов.

Для лечения данного контингента больных, как правило, используют хирургическое, лучевое и комбинированное лечение. Стронники хирургического способа воздействия приводят более высокие показа-

тели выживаемости [3]. Однако не существует общей концепции о целесообразности проведения превентивных операций на пре- и паратрахеальных зонах регионарного метастазирования у больных раком подскладочного отдела гортани.

Шейная лимфодиссекция, операция проводимая по поводу метастатического поражения шеи, имеет более чем вековую историю. В 1880 г. Кохер описал возможность выполнения шейной лимфодиссекции, на следующий год Кохер и Paskard рекомендовали диссекцию подчелюстного треугольника при раке языка, в 1885 г. Butlin ставил вопрос о лимфодиссекции при неметастатическом раке полости рта. В 1888 г. Jawdynski описал блок резекции с наружной сонной артерией, внутренней

ярменной веной и кивательной мышцей. В 1901 году Solis Cohen предложил лимфодиссекцию при неметастатическом раке гортани. В 1905 году Крайль описал классическую лимфодиссекцию, в 1926 году Bartlett и Callander предложили сохранить добавочный нерв, внутреннюю ярменную вену, кивательную мышцу, подкожную мышцу, двубрюшную мышцу и в 1933 году Blair и Brown сохранили добавочный нерв [цит. по 1,10]. В дальнейшем разработаны показания к лечебным и профилактическим вмешательствам, описана техника операций, возможные осложнения и методы их профилактики [2,5-7].

Согласно классификации, принятой в 2001 г. American Joint Committee on Cancer (AJC) и American Academy of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery (AAOHN) выделяют 6 уровней и 6 подуровней лимфатических узлов шеи (рис. 1).



Рис. 1. Классификация лимфатических узлов шеи

I (IA и IB) - ниже тела нижней челюсти (ниже ветви нижней челюсти – IIA);

IA - группа подбородочных узлов

границы: верхняя - нижняя челюсть, боковые - передние брюшки двубрюшных мышц с обеих сторон, нижняя-подъязычная кость.

IB - группа подчелюстных лимфатических узлов, находящихся спереди и сзади от подчелюстной слюнной железы. При поражении лимфатических узлов этого уровня или самой железы, она удаляется.

границы: верхняя - тело нижней челюсти, передняя - переднее брюшко двубрюшной мышцы, задняя - шилоподъязычная мышца, нижняя - тело подъязычной кости.

II, III, IV – ярменные лимфатические узлы – вдоль сосудисто-нервного пучка (внутренней ярменной вены) прикрыты m.sternocleidomastoideus

II – верхние ярменные – от уровня основания черепа до уровня нижнего края подъязычной кости, делятся на 2 подуровня, границей между которыми является добавочный нерв. IIA — верхние ярменные передние - впереди от заднего края внутренней ярменной вены;

IIВ — верхние ярменные задние - позади заднего края внутренней ярменной вены

границы: верхняя - основание черепа, передняя - шилоподъязычная мышца, задняя - добавочный нерв, нижняя - горизонтальная линия, проведенная вдоль нижнего края тела подъязычной кости

III - средние ярменные лимфатические узлы – от уровня нижнего края подъязычной кости до уровня нижнего края перстневидного хряща гортани;

границы: верхняя - горизонтальная линия, проведенная вдоль нижнего края тела подъязычной кости, передняя - передний край грудино-ключично-сосцевидной мышцы, задняя - задний край грудино-ключично-сосцевидной мышцы, чувствительные ветви шейного сплетения, нижняя - горизонтальная линия, проведенная вдоль нижнего края перстневидного хряща.

IV – нижние ярменные лимфатические узлы - от уровня нижнего края перстневидного хряща гортани до ключиц

границы: верхняя - горизонтальная линия вдоль нижнего края перстневидного хряща, передняя - передний край грудиноподъязычной мышцы, задняя — задний край грудино-ключично-сосцевидной мышцы, чувствительные ветви шейного сплетения, нижняя — ключица

V – задний (латеральный) лимфатический узел треугольника шеи соответствует анатомическим границам

VA – аксессуарные лимфатические узлы - выше уровня нижнего края перстневидного хряща, по передней поверхности трапецевидной мышцы,

границы: верхняя — угол в месте пересечения грудино-ключично-сосцевидной и трапецевидной мышц, передняя- задний край грудино-ключично-сосцевидной мышцы, чувствительные ветви шейного сплетения, задняя- трапецевидная мышца, нижняя - горизонтальная линия, проведенная на уровне нижнего края перстневидного хряща

VB – надключичные - ниже уровня нижнего края перстневидного хряща (исключая Вирховские);

границы: верхняя - горизонтальная линия, проведенная на уровне нижнего края перстневидного хряща, передняя — задний край грудино-ключично-сосцевидной мышцы, чувствительные ветви шейного сплетения, задняя - трапецевидная мышца, нижняя — ключица

VI – лимфатические узлы переднего пространства шеи - пре- и паратрахеальные, предгортанные и околощитовидные лимфатические узлы, включающие лимфатические узлы вдоль возвратного гортанного нерва.

границы: верхняя — подъязычная кость, боковые - общие сонные артерии с обеих сторон, нижняя - ярменная вырезка грудины. Данный отдел шеи является самым труднодоступным для диагностирования.

Актуальность проблемы регионарного метастазирования в пре- и паратрахеальные лимфатические узлы при раке подскладочного отдела гортани не вызывает сомнений, особенно на фоне роста общей онкологической заболеваемости и, по сей день остается



нерешенной [4,8,9,11]. Дискуссии по поводу лечения пациентов с метастазами в лимфатические узлы шеи связаны с увеличивающейся в последние годы их выживаемостью благодаря улучшению методов лечения. Поэтому работа в данном направлении является безусловно актуальной.

Согласно данным литературы [1,3,11], основной причиной смертельного исхода больных при раке гортани является региональное метастазирование. При раке подскладочного отдела гортани определение показаний к применению профилактических методов воздействия повышает эффективность лечения рака данного отдела гортани путем уменьшения частоты метастазирования в пре- и паратрахеальные зоны.

Целью данного исследования являются разработка и оценка эффективности внедрения профилактических хирургических методов лечения в зонах регионального метастазирования у больных, страдающих раком подскладочного отдела гортани.

**Материал и методы.** Основным методом лечения больных с метастазами в лимфатические узлы шеи является хирургический, основанный на топографо-анатомических данных, особенностях лимфатической системы и закономерностях метастазирования.

Изучены и проанализированы истории болезни пациентов (n=2151), леченных в ОНЦ Грузии с 2000 по 2017 гг. Из них изолированное поражение подскладочного отдела гортани диагностировано у 103 (4,3%) больных. 100 (97%) из них были мужского пола, 3 (3%) - женского. Средний возраст больных варьировал в пределах 51-62 лет. Все пациенты с диагнозом рак подскладочного отдела гортани разделены на две группы: I группа – пациенты, которым проведено традиционное лечение (n=39); II группа – пациенты с проведенной расширено-комбинированной ларингэктомией (n=64).

Для оценки эффективности профилактики метастазирования в пре- и паратрахеальные зоны проведен сравнительный анализ комбинированно-расширенных ларингэктомий с традиционными методами лечения, включающими ларингэктомию с постоперационным облучением. Сравнительный анализ проводился с учетом типа роста, дифференциации опухоли и частоты метастазирования в пре- и паратрахеальные лимфатические узлы (таблица).

Расширенная-комбинированная ларингэктомия состоит из нескольких этапов:

- мобилизация и иссечение шейной клетчатки с расположенными в ней лимфатическими узлами в границах VI уровня;
- удаление доли щитовидной железы на стороне поражения опухолью подскладочного отдела гортани, либо тиреоидэктомия при циркулярном расположении опухоли в подскладочном отделе гортани.
- мобилизация гортани и ее удаление на уровне V или VI колец трахеи (рис. 2).

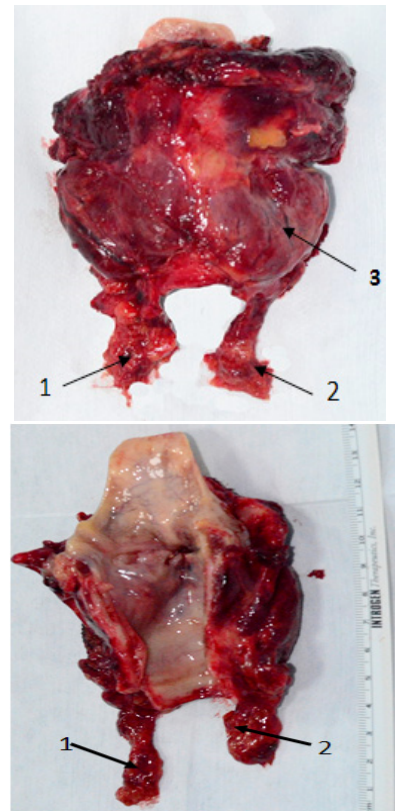


Рис. 2. 1,2 – лимфатические коллекторы, 3 – щитовидная железа

В отличие от верхних отделов гортани, подскладочный отдел имеет собственный лимфотический отток, смежный с оттоком щитовидной железы, что, в свою очередь, является основной причиной метастазирования рака подскладочного отдела гортани в щитовидную железу. Основными методами инструментального исследования при выборе масштаба хирургического вмешательства являются фиброларингоскопия, позволяющая определить локализацию и рост опухоли с дальнейшей верификацией. Ультразвуковое исследование позволяет определить наличие или отсутствие метастазирования на шее (рис. 3).

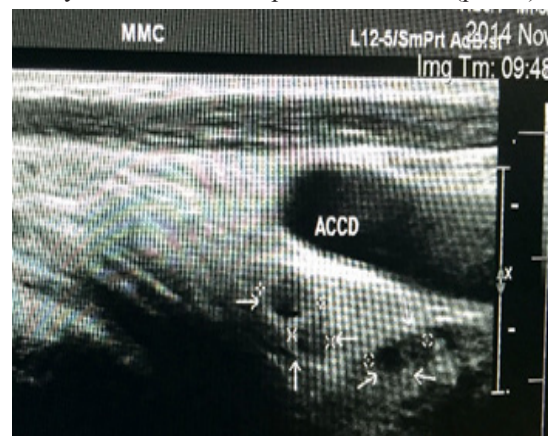


Рис. 3. Изображение увеличенных лимфотических узлов при ультразвуковом обследовании

Таблица. Сравнительный анализ пациентов I и II групп с учетом формы роста, дифференциации опухоли и частоты метастазирования пре- и паратрахеальных лимфатических узлов

Зависимость от роста и формы опухоли		I группа n=39	II группа n=64
Тип роста опухоли	экзофитный	31,4%	22,7%
	эндофитный	68,6%	77,3%
Дифференциация опухоли G	G1	36,6%	32,3%
	G2	15,6%	21,7%
	G3	47,8%	46%
частота метастазирования		66,5%	14,5%

Компьютерная томография определяет как метастазирование, так и инвазию в соседние анатомические структуры. Лимфатические узлы, расположенные в пре- и паратрахеальных зонах, являются крайне малого размера (рис. 3), что осложняет их цитологическую верификацию путем тонкоигольной аспирационной биопсии с помощью ультразвукового наведения.

При проведении комбинированно-расширенной операции выявлены увеличенные лимфатические узлы как на стороне поражения, так и на противоположной. При серийных срезах препаратов выявлены субклинические метастазы как на стороне поражения, так и противоположной, а в двух случаях обнаружены метастазы в щитовидной железе.

Как любое хирургическое вмешательство, расширенно-комбинированная ларингэктомия связана со сложностями, возникающими в ходе операции и послеоперационном периоде, в частности сложность заключается в выделении шейной клетчатки от медиальной поверхности общей сонной артерии, так как она является боковой границей VI уровня, выявление и выделение паратиреоидных желез и диафрагмального нерва, перевязка сосудистых пучков щитовидной железы на стороне удаления. Осложнениями являются гипокальциемия при дисфункции паратиреоидных желез, аррозивные кровотечения, тиреотоксикоз при полном удалении щитовидной железы, тиреоидиты оставленной доли щитовидной железы, несостоятельность швов при глоточно-пищеводном сшивании и осложнения при заживлении раны.

**Результаты и их обсуждение.** Гортань является весьма своеобразным органом, в различных отделах которого слизистая оболочка, подслизистый слой, эластичная мембрана, лимфатическая и кровеносная системы обладают рядом анатомических особенностей, которые определяют характер роста опухоли, пути ее распространения и клиническое течение. Знание этих данных позволяет составить оптимальный план лечения и масштаб операции. Подскладочный отдел является труднодоступной для обследования частью гортани. Рак данного отдела гортани встречается в пределах от 2,5 до 5% случаев, проявляется в затруднении дыхания, охриплости, чаще эндофитным характером роста; распространяется в подслизистом слое по тканевым прослойкам, чаще вниз к трахеи,

через щитоперстевидную мембрану, инфильтрирует в клетчатку между хрящами.

Одним из наиболее значимых прогностических признаков при раке подскладочного отдела гортани является наличие региональных метастазов в пре- и паратрахеальных зонах (30-80% случаев). Рак подскладочного отдела гортани относится к числу злокачественных опухолей, характеризуется высокой частотой регионарного метастазирования в пре- и паратрахеальные области. Возникновение указанных метастазов в 93% случаев приводит к смертельному исходу больных, так как они практически не чувствительны к консервативным методам лечения. Проведение радикальных хирургических вмешательств при реализованных метастазах в пре- и паратрахеальных зонах связано с большим риском интра- и послеоперационных осложнений, приводящих к смертельному исходу почти в 30% случаев.

В слизистой оболочке подскладочного отдела расположена сеть лимфатических сосудов с прилегающими к ним многочисленными (до 30) мелкими лимфатическими узлами. Именно такой малый размер лимфатических узлов затрудняет диагностику метастазов до хирургического вмешательства, что и ставит перед необходимостью разработки и внедрения расширенно-комбинированной ларингэктомии как с профилактической, так и лечебной целью. При проведении данной операции производилась лимфодиссекция на VI уровне как на стороне поражения, так и с целью профилактики с противоположной стороны, что весьма оправдано, так как при серийных срезах операционного материала выявлены метастазы плоскоклеточного рака как на стороне поражения, так и противоположной, а в двух случаях - в щитовидной железе.

Учитывая специфичность данного заболевания, основным сравнительным критерием оценки эффективности нами предложенной методики является определение частоты метастазирования в пре- и паратрахеальные зоны. Показано, что частота метастазирования при традиционных методах лечения составляла 66,5%, а при расширенно-комбинированной ларингэктомии этот показатель составил 14,5%.

Вопрос о профилактике метастазирования в лимфатические узлы шеи в настоящее время тема весьма актуальная, так как, в первую очередь, определяет воз-

возможности прогнозирования регионарного метастазирования в хирургии головы и шеи в целом, позволяет выявить микрометастазы в каждом конкретном случае. При этом появляется анатомически и клинически обоснованный выход на проведение расширенно-комбинированной операции при подскладочном отделе гортани.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Матякин Е.Г., Ольховская И.Г. Зависимость выживаемости больных раком гортани от некоторых клинических и морфологических факторов, характеризующих регионарные метастазы // Вестник оториноларингологии. – 1989. – №5. – С.57-59.
2. Пачес А.И., Опухоли головы и шеи, М. Медицина. 2000.
3. Agra I.M., Carvalho A.L., Pontes E. et al. Postoperative complications after en bloc salvage surgery for head and neck cancer. // Arch Otolaryngol Head Neck Surg. – 2003. – Dec; 129(12): –P.1317.
4. Emily Marchiano, M. Patel, Tapan D. Patel, Amit A. Patel, Yuhan E. Xue, Subglottic Squamous Cell Carcinoma: A Population-Based Study of 889 Cases Ferlito Original Research—Head and Neck Surgery, 2015: 154 issue: 2, page(s): 315-321.
6. Ferlito A., Partridge M., Brennan J.A., Hamakawa H. Lymph node micrometastases in head and neck cancer: a review // Acta Otorinolaringol.-2001; 121: 660 – 5.
7. Harada A., Sasaki R., Miyawaki D., Nishimura H., Ejima Y., Kitajima K. Treatment outcomes of the patients with early glottic cancer treated with initial radiotherapy and salvaged by conservative surgery. Japanese Journal of Clinical Oncology // 2015, 45(3)
8. Henry LR, Helou LB, Solomon NR Chang A, Libutti SK, Stojadinovic A. Current practice patterns regarding the conduct of thyroidectomy and parathyroidectomy amongst surgeons - A survey study. J Cancer 2012;1: 307-16.
9. Prendes BL, Aubin-Pouliot A, Egbert N, Ryan WR Elective lymphadenectomy during salvage for locally recurrent head and neck squamous cell carcinoma after radiation, Otolaryngol Head Neck Surg. 2014; 151(3):462-7.
10. Subramanian S. et al Classification of neck lymph nodes: The need to follow the new classification in the practice of oncology. // J. N.N. Blokhin Russian Cancer. Res. Center. 2006. № 17. P. 54-49.
5. Ferlito A. Neck Dissection: past, present and future? // J. Larungol Otol. 2005 (1):1-6. 248-255.
11. Sweeny L, Zimmerman T, Carroll WR, Schmalbach CE, Day KE, Rosenthal EL Head and neck cutaneous squamous cell carcinoma requiring parotidectomy: prognostic indicators and treatment selection, Otolaryngol Head Neck Surg. 2014 Apr;150(4):610-7

## SUMMARY

### EVALUATION OF THE EFFICACY OF THE EXTENDED-COMBINED OPERATIONS ON THE ZONES OF PRE- AND PARATRACHEAL METASTASIS IN SUBGLOTTIC CANCER OF THE LARYNX

**Dabrundashvili Z., Bakhturidze D., Mardaleishvili K.**

*Oncological Research Center of Georgia, Tbilisi, Georgia*

After a retrospective study of the history of patients with a diagnosis of laryngeal cancer (2151 people), as well as the analysis of their own clinical materials, subglottic can-

cer was found in 103 patients, which was 4.8% of the total number of patients admitted to the hospital. One group of patients (n=39) underwent laryngectomy with subsequent irradiation, another group (n=64) was carried out by us developed and introduced into practice the method of the extended-combined laryngectomy. This method involves the mobilization and excision of the cervical tissue with lymph nodes located within it at the level VI level, the mobilization of the larynx and its removal at the level of the V-th or VI-th tracheal rings, as well as the dissection or thyroid share from the side of lesion in the unilateral localization, or complete dissection in the circular localization of the tumor. The comparative analysis was carried out on the frequency of metastasis in the pre- and paratracheal zones during the subglottic cancer of the larynx. A statistically significant ( $p < 0.001$ ) decrease in the incidence of metastases was observed in the advanced-combined laryngectomy (14.5%) compared with the traditional treatment (66.5%).

If we consider that the main cause of death of patients with a tumor, both in subglottic cancer of the larynx and any other localization is metastasis, the development and introduction of new surgical methods that reduce the incidence of metastasis is a major breakthrough in practical oncology.

**Keywords:** laryngeal cancer, subglottic cancer, laryngectomy, metastases.

## РЕЗЮМЕ

### ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАСШИРЕННО-КОМБИНИРОВАННЫХ ОПЕРАЦИЙ НА ЗОНАХ ПРЕ- И ПАРАТРАХЕАЛЬНОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ РАКЕ ПОДСКЛАДОЧНОГО ОТДЕЛА ГОРТАНИ

**Дабрундашвили З.Г., Бахтуридзе Д.Г.,  
Мардаlesiшвили К.М.**

*Онкологический научно-исследовательский центр Грузии, Тбилиси, Грузия*

Проанализированы ретроспективные данные и собственные клинические материалы пациентов с диагнозом рак гортани (n=2151), из них рак подскладочного отдела гортани - у 103 (4,8%) больных. Одной группе больных (n=39) проведена ларингэктомия с последующим облучением, другой группе (n=64) - разработанный авторами и внедренный в практику метод расширенно-комбинированной ларингэктомии. Представленный метод включает в себя мобилизацию и иссечение шейной клетчатки с расположенными в ней лимфотическими узлами в границах VI уровня, мобилизацию гортани и ее удаление на уровне V или VI колец трахеи, а также удаление доли щитовидной железы со стороны поражения при односторонней локализации, либо полное удаление при циркулярной локализации



опухоли. Сравнительный анализ проводился по частоте метастазирования в пре- и паратрахеальные зоны при подскладочной локализации опухоли гортани. Выявлено статистически достоверное ( $p < 0,001$ ) снижение частоты возникновения метастазов при расширенно-комбинированной ларингэктомии (14,5%) в сравнении с традиционным методом лечения (66,5%).

Если учесть, что основной причиной гибели пациентов с опухолью, как подскладочного отдела гортани, так и при любой другой ее локализации, является метастазирование, разработка и внедрение новых хирургических методов, снижающих частоту возникновения метастазов, является большим прорывом в практической онкологии.

### რეზიუმე

გაფართოებულ-კომბინირებული ოპერაციების ეფექტურობის შეფასება პრე- და პარატრაქეალურ ზონებში მეტასტაზირებაზე ხორხის იოგექვემა არეს კიბოს დროს

ზ. დაბრუნდაშვილი, დ. ბახტურიძე, კ. მარდალეიშვილი

საქართველოს ონკოლოგიის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი, თბილისი, საქართველო

ხორხის კიბოს პაციენტების ( $n=2151$ ) და ავადების ისტორიის რეტროსპექტული და საკუთარი კლინიკური მასალის ანალიზის შედეგად ხორხის იოგექვემა არეს კიბო აღმოჩნდა 103 (4,8%) შემთხვევაში. ავადმყოფთა ერთ ჯგუფს ( $n=39$ ) ჩაუტარდა ლარინგექტომია ტრადიციული მეთოდით და შემდგომი დასხივებით, მეორე ჯგუფს ( $n=64$ ) ჩაუტარდა სტატიის ავტორების მიერ შემუშავებული და პრაქტიკაში გამოყენებული გაფართოებულ-კომბინირებული ლარინგექტომიის მეთოდით, რომელიც მოიცავს ფაშარშემაერთებელი ქსოვილის და ლიმფური აპარატის ამოკვეთას კისრის მე-V-VI დონეზე და მთელი ფარისებრი ჯირკვლის ან მხოლოდ სიმსივნით

დაზიანებულ მხარის ამოკვეთას, ან მთლიანად ჯირკვალს სიმსივის ცირკულარულ ლოკალიზაციის შემთხვევაში. შედარებით ანალიზი ჩატარდა პრე- და პარატრაქეალურ ზონებში მეტასტაზირების სიხშირის მიხედვით. გამოვლინდა ამ პარამეტრის სარწმუნო შემცირება გაფართოებულ-კომბინირებული ლარინგექტომიის დროს (14,5%) მკუნალობის ტრადიციულ მეთოდთან შედარებით (66,5%). იმის გათვალისწინებით, რომ პაციენტების სიკვდილიანობის ძირითადი მიზეზი მეტასტაზირებაა, შემუშავება და გამოყენება ყველა ახალი მეთოდის, რომელიც ამცირებს მეტასტაზირების სიხშირეს დიდ მიღწევას წარმოადგენს პრაქტიკულ ონკოლოგიაში.

## EFFECT OF SELECTED PROGNOSTIC AND RISK FACTORS ON SURVIVAL OF WOMEN WITH BREAST CANCER IN GEORGIA

<sup>1</sup>Vashakidze N., <sup>1,2</sup>Mebonia N., <sup>2</sup>Kereselidze M., <sup>1</sup>Gvamichava R., <sup>1</sup>Zhizhilashvili S.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia; <sup>2</sup>National Center for Disease Control and Public Health of Georgia

Breast cancer is the most common cancer overall, with an estimated 2.4 mln incident cases in 2015. It was the leading cause of cancer death for women with the total number of 523 000 and the fifth main cause of cancer deaths for both genders in 2015 at the global level [6]. Survival studies have yielded different findings about the survival rate and prognostic factors among countries. Analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries conducted during the period of 1995-2009, shows that 5-year survival rates for breast cancer varies from 85% or higher in the US, Canada, Australia, Israel and many Northern and Western European countries, and up to 60% or lower in many developing countries, such as South Africa, Mongolia, Algeria, and India [1]. Different clinical and

pathological prognostic factors have been proposed for breast cancer in the literature sources, including location of tumor, depth of invasion, tumor size, histological grade of tumor, lymph node metastasis, and distant metastasis.

The aim of this study is to explore the effects of some risk and prognostic factors on survival of female invasive breast cancer patients in Georgia.

According to the population-based cancer registry data in Georgia, the incidence rate of breast cancer per 100000 has changed from 94.7 in 2015 to 90.6 in 2016. In 2016, breast cancer accounted for 19.2% of all newly diagnosed cases among Georgian population and ranked the first among all cancers in both genders.

**Material and methods.** Cancer survival analysis was conducted based on retrospective study of Georgian can-

cer registry data. Almost all breast cancer cases who were diagnosed and histologically confirmed during the period of 2006-2015 and are recorded in the cancer registry system, were included in the study. From factors, associated with prognosis of disease and are considered as risk and prognostic factors, demographic (age at diagnosis, place of residence) and histopathology factors (stage at diagnosis and tumor cell differentiation grade) were included in the study. The demographic and histopathology variables used in order to explain dependent (response) variable, which is the survival status (alive, dead or censored) of the study participants.

Demographic factors include patients' age and place of residence. Age at diagnoses was classified into three groups: under 41 years, 41-59 years, and 60 years and above. All 12 regions of Georgia were included in the analysis. Tumor stage at diagnoses we classified into five groups: the first, second, third, fourth stages, and the fifth group – unknown cases. Tumor cell differentiation includes five groups: well differentiated, moderately differentiated, poorly differentiated, undifferentiated and unknown cases. At first, a reference category was selected for each factor and all the other levels of the same factor was compared to the reference one. The reference level for each factor were defined as the following:

Table 1. Some demographic and clinical characteristics of patients included in the study and Hazard Ratio (HR) for Mortality for selected factors

Factors	n (%)	HR (95% CI)	p-value
Age at diagnosis			
cancer diagnosed under 41 years of age	380 (9.9%)	<i>reference</i>	
cancer diagnosed between 41-59 years of age	1907 (49.5%)	1.45 (1.02-2.04)	0.04
cancer diagnosed over 60 years of age	1565 (40.6%)	2.40 (1.70-3.39)	0.00
Stages			
first stage	546 (14.2%)	<i>reference</i>	
second stage	1236 (32.1%)	2.25 (1.34 -3.78)	0.00
third stage	1090 (28.3%)	4.04 (2.45-6.67)	0.00
fourth stage	707 (18.4%)	10.43 (6.39-17.03)	0.00
Unknown	273 (7.1%)	3.29 (1.81-5.99)	0.00
Histological grade			
well differentiated	115 (3.0%)	<i>reference</i>	
moderately differentiated	1388 (36.0%)	1.35 (0.63-2.89)	0.44
poorly differentiated	1316 (34.1%)	2.37 (1.12-5.04)	0.03
undifferentiated	10 (0.3%)	5.19 (1.52-17.72)	0.01
unknown	1023 (26.6%)	3.33 (1.57-7.07)	0.00
Place of residence			
Tbilisi (capital city)	1665 (43.2%)	<i>reference</i>	
Adjara	211 (5.5%)	1.37 (0.97-1.94)	0.07
Abkhazia	59 (1.5%)	0.95 (0.45-2.02)	0.90
Kakheti	296 (7.7%)	0.77 (0.55-1.08)	0.13
Imereti	385 (10.0%)	1.40 (1.06-1.84)	0.02
Samegrelo-Zemo Svaneti	358 (9.3%)	0.10 (0.75-1.32)	0.10
Shida Kartli	288 (7.5%)	0.59 (0.40-0.85)	0.01
Kvemo Kartli	307 (8.0%)	0.77 (0.55-1.08)	0.13
Guria	91 (2.4%)	1.30 (0.79-2.15)	0.31
Samtskhe-Javakheti	85 (2.2%)	0.85 (0.47-1.56)	0.60
Mtskheta-Mtianeti	67 (1.7%)	0.52 (0.23-1.16)	0.11
Racha-Lechkhumi and Kvemo Svaneti	40 (1.0%)	0.82 (0.36-1.84)	0.63



Table 2. Breast cancer stages at diagnosis according to regions of Georgia

Regions	I & II stages (%)	III & IV stages (%)	Unknown (%)
Tbilisi (capital city)	48.2	43.1	8.8
Adjara	47.4	49.3	3.3
Abkhazia	25.5	49.1	25.4
Kakheti	47.4	47.0	5.7
Imereti	40.3	55.1	4.7
Samegrelo-Zemo Svaneti	43.3	50.5	6.2
Shida Kartli	49.3	45.8	4.9
Kvemo Kartli	44.6	47.9	7.5
Guria	47.3	50.6	2.2
Samtskhe-Javakheti	50.6	43.5	6.0
Mtskheta-Mtianeti	43.3	50.8	6.0
Racha-Lechkhumi and Kvemo Svaneti	52.5	47.5	0

detection of cancer under 41 years of age, living in Tbilisi (capital city of Georgia), well differentiated tumor cell, and the first stage of malignancy.

The date of diagnosis was defined as the starting point for patients' survival analysis. The observation period lasted from the date of diagnosis to the date of last follow-up (December 31, 2016), for those who were alive by the end of the study, and to the date of death (end-point), for those who died during the study. Any cause of death of the observed cancer patients was considered as the end point. Thus, the overall (and not just breast cancer related) survival rate response to predictor factors was evaluated in the study. Cox proportional hazard regression model was constructed to analyze the effects of all risk and prognostic factors and to calculate the hazard ratio (HR) for mortality and 95% Confidence Interval (95% CI). A p value <0.05 was considered as statistically significant. Data were analyzed using Statistical Package EpiInfo (version 7).

**Results and their discussion.** Total number of breast cancer cases, who met inclusion criteria and were enrolled in the study is 3852. The median age at diagnosis is 56 years of age. Patients over 80 years at diagnoses were excluded from the analysis, therefore age range was from 21 to 80 years. Some demographic and clinical characteristics of study participants are shown in the table 1; this table also shows the obtained relative hazard ratio among the categories for all the factors. We have found that cancer diagnosed between 41-59 years of age had a lower death hazard compared to cancer detected over 60 years of age. There were significant differences in terms of survival among patients detected at different stages: the hazard of death for cancer patients diagnosed at the second, third and fourth stages in comparison with the reference group (those, who were diagnosed at the first stage), was two, four and ten times higher accordingly. The study results showed that patients with the moderately differentiated tumor had better survival chance, than those with

poorly differentiated and undifferentiated cancer. Patients living in regions of Imereti, Adjara and Guria had higher risk of mortality than Tbilisi residents, while living in Shida Kartli region, had statistically significant effect on better survival.

Breast cancer survival differences among the regions of Georgia could be related to different oncological alertness of population and PHC practitioners/family doctors in different localities of the country that effects on early detection of cancer. The Table 2 shows that in Imereti region, where statistically significant low survival chance was revealed, proportion of cancer cases detected at late (III and IV) stages, was higher in comparison with other regions. Additional reason of dissimilarity of survival periods could correlate with cancer treatment and care.

Increasing breast cancer survival, observed in most western countries, is not easily interpreted: it could be due to better management, more effective treatment, or due to earlier diagnosis. Increased early detection by implementing screening programs can inflate both incidence and survival. In most countries, increased survival indicating a real advantage for patients when accompanied by decreasing or stable mortality, and attributable to improved cancer care (Sweden, UK, France, Italy and Spain). In Finland (with high survival), the Netherlands and Denmark, increasing mortality and incidence indicate increasing breast cancer risk, probably related to behavioral risk factors, while in Estonia, low and stable survival in the context of increasing incidence and mortality suggests inadequate care [9].

International differences in breast cancer survival was investigated by Walters S. et al [12]. In the study was included 257,362 women diagnosed with breast cancer during 2000-2007 and registered in 13 population-based cancer registries in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden and the UK. Investigators concluded that international dissimilarities in breast cancer survival are partly explained by differences in stage at diagnosis, and partly

by differences in stage-specific survival. Low overall survival arises if the stage distribution is adverse (e.g. Denmark), but stage-specific survival is normal; or if the stage distribution is typical but stage-specific survival is low (e.g. UK). In addition, international differences in staging diagnostics and stage-specific cancer treatment should be taken into consideration [12].

Age is an important risk factor for breast cancer, but it has also been suggested that breast cancer survival is related to patient age at diagnosis. As breast cancer is the most common malignancy in women under 40 years of age and approximately one third of breast cancer is detected in women aged 70 years and older, the association between age at diagnosis and cancer survival was examined in many studies. Previous data has been contradictory on whether the poor prognosis of young women exists in all stages, or only in women with small tumors and without axillary lymph node involvement [4,7,10]. Our study results are inconsistent with earlier findings showing that women diagnosed with breast cancer under 40 years of age had a poor prognosis then women diagnosed over 70 years [2,3].

This study results support the findings from other investigations showing that a tumor stage at diagnosis of breast cancer still influences overall survival significantly in the current period of effective systematic therapy. Early diagnosis of breast cancer remains vital [5,8,11].

**Conclusions.** Some risk and prognosis factors, such as demographic (age and place of residence) and histopathology (stage at diagnosis and tumor cell differentiation grade) factors have an impact on survival of the female invasive breast cancer patients, moreover, this effect mainly is statistically significant.

## REFERENCES

1. Allemani C, Weir HK, Carreira H, et al. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet* 2015; 385(9974): 977-1010.
2. Brandt J, Garne JP, Tengrup L, Manjer J. Age at diagnosis in relation to survival following breast cancer: a cohort study. *World Journal of Surgical Oncology* 2015; 13: 33-44.
3. Brenner DR, Brockton NT, Kotsopoulos J, Cotterchio M, Boucher BA, Courmeya KS, Knight JA, Olivotto IA, Quan ML, Friedenreich CM. Breast cancer survival among young women: a review of the role of modifiable lifestyle factors. *Cancer Causes Control*. 2016; 27 (4):459-472.
4. Grenlich JL, Deshpande AD, Jeffe GB, Sweet A, White N, Margenthaler JA. Elevated breast cancer mortality in women younger than age 40 years compared with older women is attributable to poorer survival in early-stage disease. *J Am Coll Surg* 2009; 208 (3):341-348.
5. Iqbal J, Ginsburg O, Rochon PA, Sun P, Narod SA. Differences in breast cancer stage at diagnosis and cancer-specific survival by race and ethnicity in the United States. *JAMA* 2015; 313 (2):165-173.
6. Fitzmaurice Ch. et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived with Disability, and Disability Adjusted Life Years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015. A systematic Analysis for the GBD Study. *JAMA*

*Oncol.* 2017; 3(4):524-548.

7. Fredholm H, Eaker S, Frisel J, Holberg J, Fredlksso I, Lindman H. Breast cancer in young women: poor survival despite intensive treatment. *PLoS One*. 2009, 4 (11): 7695.
8. Saadatmand S, Bretveld R, Siesling S, Madeleine MA. Influence of tumor stage at breast cancer detection on survival in modern times: population based study in 173797 patients. *BMJ* 2015; 351-362.
9. Sant M, Francisci S, Capocaccia R, Verdecchia A, Allemani C, Berrino F. Time trends of breast cancer survival in Europe in relation to incidence and mortality. *Int J Cancer*. 2006; 119(10): 2417-22.
10. Skye Hung-Chun Cheng, Ben-Long Yu, Cheng-Fang Horng, Stella Y. Tsai, Chii-Ming Chen, Nei-Min Chu, Mei-Hua Tsou, Christopher K.J.Lin, Li-Sun Shih, Mei-Ching Liu, Long-term survival and stage I breast cancer subtypes. *Journal of Cancer Research and Practice* 2016; 3: 1-8.
11. Xue Qin Yu. Socioeconomic disparities in breast cancer survival: relation to stage at diagnosis, treatment and race. *BMC Cancer* 2009; 9: 364-371.
12. Walters S, Maringe C, Butler J, Rachet B, Barrett-Lee P, Bergh J, Boyages J, Christiansen P, Lee M, Wärnberg F, Allemani C, Engholm G, Fornander T, Gjerstorff ML, Johannesen TB, Lawrence G, McGahan CE, Middleton R, Steward J, Tracey E, Turner D, Richards MA, Coleman MP. Breast cancer survival and stage at diagnosis in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden and the UK, 2000-2007: a population-based study. *British Journal of Cancer*. 2013; 108 (5):1195-1208.

## SUMMARY

### EFFECT OF SELECTED PROGNOSTIC AND RISK FACTORS ON SURVIVAL OF WOMEN WITH BREAST CANCER IN GEORGIA

<sup>1</sup>Vashakidze N., <sup>1,2</sup>Mebonia N., <sup>2</sup>Kereselidze M., <sup>1</sup>Gvamichava R., <sup>1</sup>Zhizhilashvili S.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia; <sup>2</sup>National Center for Disease Control and Public Health of Georgia

According to the population-based cancer registry data in Georgia, the incidence rate of breast cancer per 100000 women was 90.6 in 2016.

The aim of this study is to explore the effects of risk and prognosis factors on survival of female invasive breast cancer patients in Georgia.

Cancer survival analysis was conducted, it is based on retrospective study of Georgian cancer registry data. Almost all breast cancer cases who were diagnosed and histologically confirmed during the period of 2006-2015 and are recorded in the cancer registry system, were included in the study. From factors, associated with prognosis of disease and are considered as risk and prognosis factors, demographic (age at diagnosis, place of residence) and histopathology factors (stage at diagnosis and tumor cell differentiation grade) were included in the study. Survival status (alive, dead or censored) was used as the dependent (response) variable. As the starting point of time for estimating survival of patients was defined the date of diagnosis. Patients' observation period included the time

from the date of diagnosis to the last follow-up (31<sup>st</sup> December 2016) for those who was alive by the end of the study, and the date of death (end-point) for those who died during the study period. Any cause of death of cancer patients was considered as the end point. That means the overall (and not breast cancer specific) survival rate response to predictor factors was estimated in the study. Cox proportional hazard regression model was constructed to analyze the effect of all risk and prognosis factors and calculate the hazard ratio (HR) for mortality and 95% Confidence Interval (95% CI). A *p* value < 0.05 was considered as statistically significant. Total number of breast cancer cases enrolled in the study is 3852, age range from 21 to 80 years. We have found that cancer diagnosed between 41-59 years of age had a lower death hazard (HR=1.45, *p*=0.04) compared to cancer detected over 60 years of age (HR=2.40, *p*<0.01). There were significant differences (*p*<0.01) in terms of survival between patients, detected at different stages: the hazard ratio of death for cancer patients diagnosed at the second, third and fourth stages was 2.25, 4.04, and 10.43 accordingly. The study results showed that the moderately differentiated tumor had better survival chance (HR=1.35, *p*=0.44), than those with poorly differentiated (HR=2.37, *p*=0.03), and undifferentiated cancers (HR=5.19, *p*=0.01). Patients living in regions of Imereti (HR=1.40, *p*=0.02), Adjara (HR=1.37, *p*=0.07), and Guria (HR=1.30, *p*=0.31), had higher risk of mortality than residents of Tbilisi, while living in Shida Kartli (HR=0.59, *p*=0.01) region had statistically significant effect on better survival. Breast cancer survival dissimilarities among the regions of Georgia could be explained by detection of cancer at different stages and non-standard approaches to cancer management. Some risk and prognosis factors, such as the demographic (age and place of residence) and histopathology (stage at diagnosis and tumor cell differentiation grade) factors have impact on survival of the female invasive breast cancer patients, moreover, this effect mainly is statistically significant.

**Keywords:** female breast cancer, overall survival, prognostic factors, hazard ratio.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ РИСКА И ПРОГНОЗА НА ВЫЖИВАНИЕ ЖЕНЩИН С ДИАГНОЗОМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ГРУЗИИ

<sup>1</sup>Вашакидзе Н.М., <sup>1,2</sup>Мебония Н.М.,  
<sup>2</sup>Кереселидзе М.Т., <sup>1</sup>Гвамичава Р.Р.,  
<sup>1</sup>Жижилашвили С.З.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет; <sup>2</sup>Национальный центр контроля заболеваний и общественного здравоохранения, Тбилиси, Грузия

По данным популяционного реестра рака, показатель заболеваемости раком молочной железы в Гру-

зии в 2016 г. на 100000 женщин составил 90.6.

Целью исследования явилось определение влияния факторов риска на прогноз и выживаемость женщин с инвазивным раком молочной железы в Грузии.

Проведен анализ выживаемости больных раком с использованием ретроспективных данных популяционного реестра онкологических заболеваний. В исследование включены все случаи рака молочной железы, выявленные, гистологически подтвержденные и зарегистрированные в базе данных реестра рака в 2006-2015 гг. Факторы риска и прогноза, которые связаны с прогнозом заболевания, включают демографические (возраст при постановке диагноза, место жительства) и гистопатологические (стадия заболевания при диагностике и дифференциация опухолевых клеток) переменные. Статус выживания - живая, мертвая или цензурированная (пациентки, которые выбыли из исследования по какой-либо причине), использован в качестве зависимой переменной. Последней датой наблюдения определено 31 декабря 2016 г. Для пациентов, выживших до этого момента, время наблюдения охватывало период с даты постановки диагноза до конца исследования, а для остальных - период с даты диагноза до смерти. В ходе исследования оценено воздействие различных факторов на общий показатель выживаемости, учитывая смерть, вызванную какой-либо причиной. Для анализа влияния факторов риска и прогноза на выживаемость, а также для вычисления соотношения рисков смертности (HR-hazard ratio) и 95% доверительного интервала (95% ДИ) построена модель пропорциональных рисков Кокса. Значение *p* < 0,05 определено как статистически достоверное.

Общее число проанализированных случаев рака молочной железы составило 3852, возрастной диапазон - 21-80 лет. Рак, диагностированный в возрасте 41-59 лет, имел более низкий риск смертности (HR=1.45, *p*=0.04) в сравнении с раком, выявленным после 60 лет (HR=2.40, *p*<0.01). Установлены значительные различия (*p*<0.01) между пациентами с точки зрения выживаемости на разных стадиях заболевания: соотношение риска рака у пациентов, диагностированных на второй, третьей и четвертой стадиях, составило 2.25, 4.04 и 10.43, соответственно. Результаты исследования показали, что среднедифференцированная опухоль имеет более высокий шанс на выживаемость (HR=1.35, *p*=0.44), чем низкодифференцированная (HR=2.37, *p*=0.03) и недифференцированная (HR=5.19, *p*=0.01). Пациенты, проживающие в регионах Имеретии (HR=1.40, *p*=0,02), Абхазии (HR=1.37, *p*=0.07) и Гурии (HR=1.30, *p*=0.31), имели более высокий риск смертности, чем жители города Тбилиси, а в Шида Картли (HR=0.59, *p*=0,01) отмечалась статистически значимая лучшая выживаемость. Различия в выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от проживания в различных регионах Грузии следует объяснить выявлением рака на разных стадиях и нестандартными подходами к управлению

болезнью. Некоторые факторы риска и прогноза, такие как возраст, стадия во время диагностики и дифференциация опухолевых клеток, оказывают влияние на выживаемость женщин с инвазивным раком молочной железы и является статистически достоверным.

### რეზიუმე

შერჩეული რისკის და პროგნოზული ფაქტორების ზემოქმედება ქალთა ძუძუს კიბოს გადარჩენის მაჩვენებელზე საქართველოში

<sup>1</sup>ნ. ვაშაკიძე, <sup>1,2</sup>ნ. მებონია, <sup>2</sup>მ. კერესელიძე,

<sup>1</sup>რ. ღვამინავა, <sup>1</sup>ს. ჟიჟილაშვილი

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>საქართველოს დაავადებათა კონტროლის და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი, თბილისი

კიბოს პოპულაციური რეგისტრის მონაცემების მიხედვით 2016 წელს საქართველოში ძუძუს კიბოს ავადობის მაჩვენებელი 100000 ქალზე შეადგენდა 90.6-ს.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ქალთა ინვაზიური ძუძუს კიბოს გადარჩენაზე პროგნოზის და რისკის ფაქტორების ზემოქმედების შეფასება საქართველოში. ჩატარდა კიბოს პოპულაციური რეგისტრის 2006-2015 წლებში ძუძუს კიბოს შემთხვევების რეტროსპექტიული ანალიზი. გაანალიზდა დემოგრაფიული (ასაკი დიაგნოზის დასმისას, საცხოვრებელი ადგილი) და ჰისტოპათოლოგიური (სტადია დიაგნოზის დასმისას, სიმსივნური უჯრედის დიფერენცირების ხარისხი) ფაქტორები. დამოკიდებულ ცვლადს მოცემულ კვლევაში წარმოადგენდა გადარჩენის სტატუსი - ცოცხალი, გარდაცვლილი ან ცენზურა (პაციენტები, რომლებიც გარკვეულ ეტაპზე უცნობი მიზეზით გამოეთიშნენ კვლევას). მეთვალყურეობის პერიოდი მოიცავდა დიაგნოზის დასმის თარიღიდან კვლევის დასრულებამდე პერიოდს (2016 წლის 31 დეკემბერი) ცოცხლადყოფი პაციენტებისთვის, ხოლო დანარჩენებისთვის გარდაცვალებამდე პერიოდს. მხედველობაში მიღებული იყო

ნებისმიერი მიზეზით გამოწვეული სიკვდილი, რაც ნიშნავს, რომ კვლევით შეფასდა გადარჩენის საერთო (და არა ძუძუს კიბოს სპეციფიკური) მაჩვენებლის დამოკიდებულება სხვადასხვა ფაქტორებზე. კოქს-პროპორციული რისკის რეგრესიული ანალიზის მოდელი გამოყენებული იყო რისკისა და პროგნოზის ფაქტორების ზემოქმედების შეფასების, სიკვდილიანობის რისკების თანაფარდობის (HR-hazard ratio) და 95% სარწმუნოების ინტერვალის გამოთვლის მიზნით. p-ს მნიშვნელობა <0.05 მიღებულ იქნა როგორც სტატისტიკურად სარწმუნო.

კვლევაში ჩართული იყო 3852 პაციენტი, ასაკის დიაპაზონი - 21-80 წელი. კვლევის პროცესში გამოვლინდა, რომ 41-59 ასაკობრივ ჯგუფში დიაგნოსტირებულ ძუძუს კიბოს სიკვდილიანობის რისკი იყო დაბალი (HR=1.45, p=0.04) 60 წლის ზემოთ გამოვლენილ შემთხვევებთან შედარებით (HR=2.40, p<0.01). სიკვდილიანობის რისკების თანაფარდობა მეორე, მესამე და მეოთხე სტადიებზე გამოვლენილი ძუძუს კიბოსთვის შეადგენდა 2.25, 4.04 და 10.43-ს შესაბამისად; აღნიშნული განსხვავება, გადარჩენის თვალსაზრისით, სტატისტიკურად სარწმუნო იყო (p<0.01). საშუალო დიფერენცირების ხარისხის მქონე კიბოს უკეთესი გადარჩენის შანსი (HR=1.35, p=0.44) ჰქონდა, დაბალდიფერენცირებულ (HR=2.37, p=0.03) და არადიფერენცირებულ HR=5.19, p=0.01) კიბოსთან შედარებით. იმერეთში (HR=1.40, p=0.02), აჭარასა (HR=1.37, p=0.07) და გურიაში (HR=1.30, p=0.31) აღმოჩნდა სიკვდილიანობის უფრო მაღალი რისკი, ვიდრე თბილისში მცხოვრებ პაციენტებში, შიდა ქართლის (HR=0.59, p=0.01) მოსახლეობაში გადარჩენის უკეთესი, სტატისტიკურად სარწმუნო შანსი გამოვლინდა. საქართველოს რეგიონებში ძუძუს კიბოს გადარჩენის განსხვავებული შანსი შესაძლოა კიბოს სხვადასხვა სტადიაზე გამოვლენით და მკურნალობისადმი არასტანდარტული მიდგომებით აიხსნას. დაავადების მიმდინარეობის პროგნოზისა და რისკის ზოგიერთი ფაქტორი: ასაკი, სტადია დიაგნოზის დასმისას და კიბოს დიფერენცირების ხარისხი გავლენას ახდენს ქალთა ინვაზიური ძუძუს კიბოს გადარჩენის მაჩვენებელზე და სტატისტიკურად სარწმუნოა.



## PLACENTAL GROWTH FACTOR AND MATERNAL CHARACTERISTICS IN THE FIRST TRIMESTER AMONG PREGNANT WOMEN OF KAZAKH NATIONALITY

<sup>1</sup>Meiramova A., <sup>1</sup>Smagulova A., <sup>1</sup>Akhetova N., <sup>2</sup>Ukybasova T., <sup>1</sup>Ainabekova B.

<sup>1</sup>JSC "Medical University Astana", Internal Diseases Department; <sup>2</sup>Branch of the Corporate Foundation "University Medical Center" National Research Center of Motherhood and Childhood, Astana, Kazakhstan

Nowadays, great attention has been paid to the role of angiogenic factors in the development of preeclampsia. It was found that the determination of the level of placental growth factor (PIGF) in the first trimester of pregnancy is associated with the subsequent development of preeclampsia [14,17]. Moreover, at the present time there are a number of studies devoted to the study of factors that increase the risk of preeclampsia. According to Duckitt et al., it was ascertained that the risk of developing preeclampsia increases in 2 times among pregnant women over 40 years, regardless of obstetric anamnesis [4]. Karumanchi et al. lead to the evidence that the risk of developing preeclampsia in subsequent pregnancies and its presence in anamnesis amounts to 25% [9]. Lai et al., Uzan et al. revealed the ratio of chances of disease development among pregnant women, depending on the anamnesis data, kidney disease, arterial hypertension, diabetes mellitus, metabolic syndrome, antiphospholipid syndrome, cardiovascular disease, and other factors [10,16].

Taking into account a crucial role of angiogenic growth factors in the development of preeclampsia, maternal anamnesis data are of great interest, which can affect the level of PIGF among pregnant women in the first trimester. In the physiological course of pregnancy, the concentration of serum PLGF depends on the mother's age, gestational age, method of conception and race origin [13,16]. Mehendale et al. noted the effect of smoking on the state of angiogenic growth factors [11], whereas Tsiakkas et al. note that PIGF is diminished with increasing maternal weight. Moreover, PIGF is decreased among women with the first type of diabetes and patients with the second type of diabetes mellitus requiring insulin therapy [15]. Likewise, the authors denoted that PIGF is increased among women of Afro-Caribbean, South Asian and East Asian racial origins. Ong et al. remark an increase of PIGF among pregnant women with non-insulin-dependent diabetes and gestational diabetes in the first trimester of pregnancy [12].

Considering the data on the impact of race origin and maternal anamnesis data at the PLGF level, the aim of the study was to estimate changes at PIGF level in the first trimester of pregnancy, depending on the maternal anamnesis data among women of Kazakh ethnicity.

**Material and methods.** We conducted a cross-sectional one-stage study in the period from January 1, 2016 to October 1, 2016, on the basis of the women's counseling office No. 4 of the city polyclinic in Astana. The study was conducted in accordance with the Helsinki Declara-

tion. 123 pregnant women at 11-12 weeks of pregnancy in a woman's consultation clinic- were examined by a continuous method. Inclusion criteria: Pregnant women of Kazakh nationality aged 18 to 46 years with spontaneous single-pregnancy, in the gestation period of 11-12 weeks.

Exclusion criteria were the abnormal course of pregnancy and childbirth in the anamnesis, which included preeclampsia (n=7), preterm delivery (delivery up to 37 full weeks of pregnancy) (n=6), postpartum bleeding (n=4), perinatal mortality (stillbirth) (n=2), the birth of children with malformations (n=5). As well as, the presence of other factors that increase the risk of preeclampsia: obesity of the 1-3 degree, metabolic syndrome (n=11), preliminarily diagnosed disorders of carbohydrate metabolism (n=10), pre-existing arterial hypertension (n=8).

All 63 pregnant women under the study were examined at 12 weeks of gestation and a pre-gravid body mass index (BMI) was calculated. At the gestational age of 12 weeks, one sample of blood was taken to determine PIGF among tested pregnant women. Laboratory tests were conducted in the morning in fasting state, after a night 12-hour fasting. Blood was collected from the cubital vein. Later, after centrifugation for 10 minutes at 2000 rpm, the plasma was frozen at a temperature of -20 Celsius degree. Laboratory studies were carried out as samples were accumulated.

Investigating the level of PIGF, the anamnesis data of pregnant women were taken into account. Furthermore, the changes in its level depending on the expected factors that can affect the level of angiogenic growth factor were analyzed. These factors included the age of the women being studied, pre-gravid body mass index (BMI), obstetric anamnesis including the first pregnancy, and the forthcoming first births, early birth of children weighing more than 4000 grams (Table 1). Harmful habits as smoking, as well as the hereditary burden of cardiovascular disease and diabetes mellitus were not revealed.

Statistical processing of data was conducted according to the generally accepted standards (IBM SPSS Statistics 21 software). The quantitative characteristics are represented by the Median (Me) and quantiles (25; 75), qualitative – by absolute numbers and % fractions. To estimate the significance of the differences in the medium quantity, the comparison was implemented by the use of a non-parametric Mann-Whitney test. The nominal data was compared by means of conjugation tables for the four-field tables with the calculation of Pearson's Chi-square criterion. The strength of the revealed relationship

Table 1. Clinical characteristics of pregnant women under study

Clinical anamnestic characteristics of patients (n = 63)	Me(Q1,Q3)/N, %
Age (years)	28 (26-32)
Pre-gravid BMI (kg / m <sup>2</sup> )	21 (19,1-23)
Pregnant women with overweight	12 (19%)
First-pregnancy	25 (39,7%)
Nulliparous	28 (44,4%)
Early birth of children weighing more than 4000 gram	7 (11,1%)

was assessed by the Phi criterion according to the recommendations of Rea and Parker. The computation of the relative risk was made by use of the conjugation tables, with the calculation of 95% CI. The values of  $p < 0.05$  were regarded statistically significant.

**Results and their discussion.** The level of placental growth factor among the pregnant women under study ranged from 0.01 to 107.4 pg / ml at 12 weeks (Fig. 1).

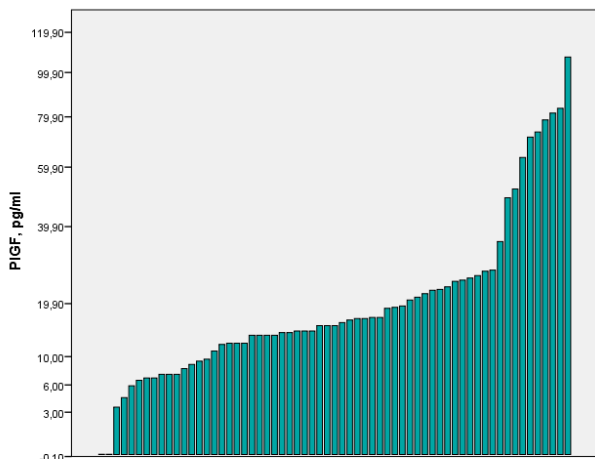


Fig. 1. Variability of the PIGF level in the pregnant women

The age of the pregnant women under study was in the range of 18 to 45 years. The levels of PIGF among the tested pregnant women, depending on age are shown in Fig. 2.

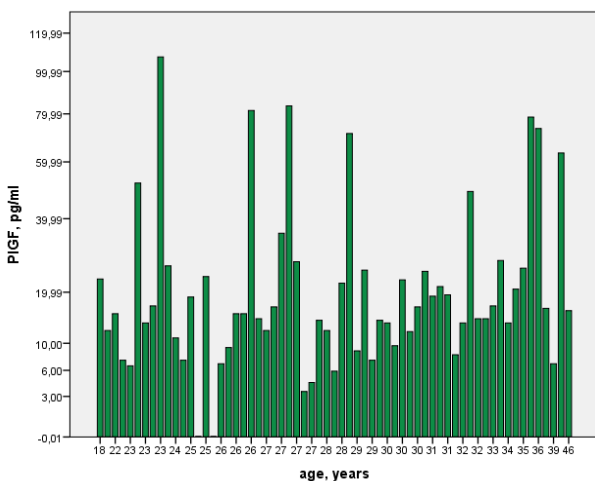


Fig. 2. Variability of the PIGF level depending on age

We converted the variable to a dichotomous one by median age amounting to 28 years. The comparative analysis depicted that there were no statistically significant differences in the level of PIGF among pregnant women under 28 years and older. The concentration amounted to  $Me=14.9$  pg/ml,  $Q1=7.8$ ;  $Q3=23.5$  among pregnant women under 28 years; among pregnant women older than 28 years, it was  $Me = 16.8$  pg / ml,  $Q1=12$ ;  $Q3=25$  ( $U = 402$ ,  $Z = -1.211$ ,  $p = 0.226$ ).

Hereinafter, we studied the changes in PIGF depending on pre-gravid BMI, which was assessed according to WHO recommendations (Fig. 3).

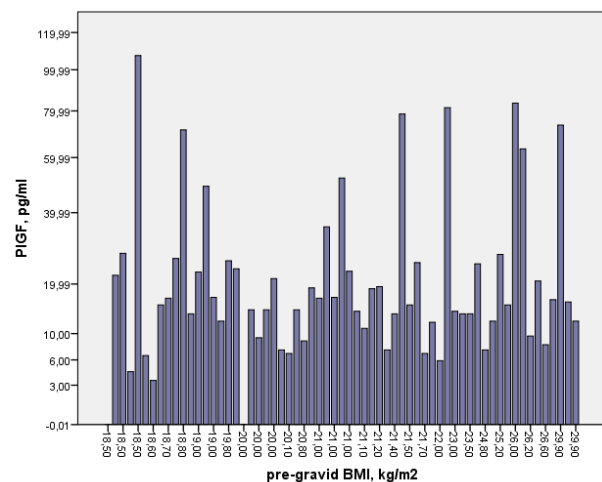


Fig. 3. Variability of the PIGF level depending on pre-gravid BMI

As it was indicated earlier, the presence of excess body weight before pregnancy was revealed among 12 pregnant women. However, there were no statistically significant differences in serum PIGF concentration, depending on the presence or absence of pre-gravid excess body weight ( $U = 225$ ,  $Z = -0.893$ ,  $p = 0.372$ ). Among pregnant women with pre-gravid normal BMI its concentration was  $Me = 16.25$  pg/ml,  $Q1=12.2$ ,  $Q3=54.5$ ; among women with excess weight before pregnancy, it was  $Me = 15.4$  pg/ml,  $Q1=9.3$ ,  $Q3=23.7$ .

The analysis of PIGF level depending on the obstetric anamnesis showed the absence of statistically significant differences as well. Its concentration among nulliparous women amounted to  $Me = 14.24$  pg/ ml,  $Q1=12$ ,  $Q3=22$ , whereas in multiparous women it was  $Me = 17$  pg/ml,  $Q1=$

9.3 Q3-25, 3 ( $U=416.5$ ,  $Z=-1.017$ ,  $p=0.309$ ). Statistically significant differences in the first and repeatedly pregnant women were also not detected  $U=435$ ,  $Z=-0.562$ ,  $p=0.574$ . The concentration of PIGF in the first and re-pregnant was  $Me=14.4$  pg/ml Q1-12.2 Q3-21 and  $Me=16.9$  pg / ml Q1-8.6 Q3-25.5, respectively.

However, we revealed that pregnant women giving a birth with more than 4,000 grams had a higher concentration of PIGF ( $Me=27.5$  pg/ml Q1-17 Q3-63.5), compared with women whose the given factor was absent in the anamnesis ( $Me=14.9$  pg/ml Q1-9.7 Q3-23),  $U=101.5$ ,  $Z=-2.068$ ,  $p=0.039$ .

Undoubtedly, the pregnant age is one of the essential factors. There are studies that indicate an increase in PLGF with age about 4% every 10 years [13,15], among multiparous women [10,13,15], and smokers [11]. The given facts provide an opportunity to suppose the effect of the adrenal function of a pregnant woman in stimulating PIGF [5,6]. In our study, the changes in the level of PIGF, depending on the age, pre-gravid BMI were not revealed in the anamnesis. However, the revealed statistically significant high levels of PIGF in maternal females with a birth of a large fetus in the anamnesis were taken into account. These changes are probably due to a higher response of the hypothalamic-pituitary-adrenal system of pregnant women.

During the study, the greatest interest was evoked by the spread of the concentration of PIGF, which varied from 0.01 to 107.4 pg/ml. In this case, approximately 80% of the pregnant women under study had a level below 25 pg/ml.

Nowadays, there are data on the variation in PIGF, depending on the ethnic group of pregnant women. The study by Yang et al. showed that the PIGF level at 15-20 weeks of gestation period among 90 Europeans, 67 Hispanics and 40 Afro-Americans differed, and the latter had a significantly higher level of 47.47 and 50 pg/ml, respectively [19]. According to Browne et al., the PIGF level in Afro-Caribbean women at the 13<sup>th</sup> week of pregnancy varies within the range of 59.2-132 pg/ml [2]. The study of the PIGF level among Slavic women showed that its level at 11-13 weeks fluctuated between 34.96-59.4 pg/ml [1]. According to Han et al., the level of PIGF in the first trimester of pregnancy among Chinese women was higher than that of Britons and Canadians [3,7,8] while the study of Thai pregnant women revealed that the concentration of growth factor throughout the period of pregnancy was lower than among European [18].

Taking into consideration the differences in the serum level of PIGF, depending on the ethnicity, we assume that a low concentration of PIGF among pregnant Kazakhs can be determined by ethnic characteristics, as well as by a decrease in the adaptive capacity of adrenal hormones. We recommend that the study on the ethnic variation of PIGF among pregnant women of Kazakh nationality should be conducted completely.

## REFERENCES

1. Иванец Т.Ю. АМА, Гончарова Е.А., Ходжаева З.С. Маркеры преэклампсии в первом и втором триместрах беременности // Проблемы репродукции. 2012;3:87.
2. Browne JL, Klipstein-Grobusch K, Koster MPH, Ramamoorthy D, Antwi E, Belmouden I, et al. Pregnancy Associated Plasma Protein-A and Placental Growth Factor in a Sub-Saharan African Population: A Nested Cross-Sectional Study // PLOS ONE. 2016;11(8):e0159592
3. Donalson K, Turner S, Morrison L, Liitti P, Nilsson C, Cuckle H. Maternal serum placental growth factor and  $\alpha$ -fetoprotein testing in first trimester screening for Down syndrome // Prenatal Diagnosis. 2013;33(5):457-61.
4. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies // BMJ. 2005;330(7491):565
5. Eisele N, Albrecht C, Mistry HD, Dick B, Baumann M, Surbek D, et al. Placental expression of the angiogenic placental growth factor is stimulated by both aldosterone and simulated starvation // Placenta. 2016 2016/04/01;40(Supplement C):18-24
6. Eisele N, Gennari-Moser C, Albrecht C, Baumann M, Surbek D, Mohaupt MG. PP010. Does aldosterone participate in placental angiogenesis via PLGF? // Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health. 2012 2012/07/01;2(3):245
7. Han J, Liu H, Xu Z-P, Cuckle H, Sahota D, Li D-Z, et al. Maternal serum PIGF (placental growth factor) in Chinese women in the first trimester undergoing screening for Down syndrome // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 2016 2016/06/01;201(Supplement C):166-70.
8. Johnson J, Pastuck M, Metcalfe A, Connors G, Krause R, Wilson D, et al. First-trimester Down syndrome screening using additional serum markers with and without nuchal translucency and cell-free DNA // Prenatal Diagnosis. 2013;33(11):1044-9.
9. Karumanchi SA, Lindheimer MD. Advances in the understanding of eclampsia // Current Hypertension Reports. 2008 2008/08/01;10(4):305-12.
10. Lai J, Garcia-Tizon Larroca S Fau - Peeva G, Peeva G Fau - Poon LC, Poon Lc Fau - Wright D, Wright D Fau - Nicolaides KH, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by serum placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase-1 at 30-33 weeks' gestation. 20140619 DCOM- 20150220(1421-9964 (Electronic)).
11. Mehendale R, Hibbard J, Fazleabas A, Leach R. Placental angiogenesis markers sFlt-1 and PIGF: response to cigarette smoke // American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2007 2007/10/01;197(4):363.e1-.e5.
12. Ong CYT, Lao TT, Spencer K, Nicolaides KH. Maternal serum level of placental growth factor in diabetic pregnancies // The Journal of reproductive medicine. 2004 2004/06//;49(6):477-80.
13. Pandya P, Wright D Fau - Syngelaki A, Syngelaki A Fau - Akolekar R, Akolekar R Fau - Nicolaides KH, Nicolaides KH. Maternal serum placental growth factor in prospective screening for aneuploidies at 8-13 weeks' gestation. 20120323 DCOM-20120724(1421-9964 (Electronic)).
14. Parra-Cordero M, Rodrigo R, Barja P, Bosco C, Rencoret G, Sepúlveda-Martinez A, et al. Prediction of early and late pre-eclampsia from maternal characteristics, uterine artery Doppler and markers of vasculogenesis during first trimester of pregnancy // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. 2013;41(5):538-44.

15. Tsiakkas A, Duvdevani N, Wright A, Wright D, Nicolaidis KH. Serum placental growth factor in the three trimesters of pregnancy: effects of maternal characteristics and medical history // *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2015;45(5):591-8.
16. Uzan J, Carbonnel M, Piconne O, Asmar R, Ayoubi J-M. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management // *Vascular Health and Risk Management*. 2011;7:467-74.
17. Wa Law L, Sahota DS, Chan LW, Chen M, Lau TK, Leung TY. Serum placental growth factor and fms-like tyrosine kinase 1 during first trimester in Chinese women with pre-eclampsia – a case-control study // *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2011 2011/06/01;24(6):808-11.
18. Wataganara T, Pratumvinit B, Leethearakul J, Pongprasobchai S, Lahfahroengron P, Pooliam J. PP122. Lack of correlation between placental weight and circulating soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor suggests trophoblastic activity as a major contributor to the serum pool // *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health*. 2012 2012/07/01;2(3):305
19. Yang J, Pearl M, DeLorenze GN, Romero R, Dong Z, Jelliffe-Pawlowski L, et al. Racial-ethnic differences in midtrimester maternal serum levels of angiogenic and antiangiogenic factors // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2016 2016/09/01;215(3):359.e1-.e9.

## SUMMARY

### PLACENTAL GROWTH FACTOR AND MATERNAL CHARACTERISTICS IN THE FIRST TRIMESTER AMONG PREGNANT WOMEN OF KAZAKH NATIONALITY

<sup>1</sup>Meiramova A., <sup>1</sup>Smagulova A., <sup>1</sup>Akhetova N.,  
<sup>2</sup>Ukybasova T., <sup>1</sup>Ainabekova B.

<sup>1</sup>JSC “Medical University Astana”, Internal Diseases Department; <sup>2</sup>Branch of the Corporate Foundation “University Medical Center” National Research Center of Motherhood and Childhood, Astana, Kazakhstan

The impact of ethnicity and maternal anamnesis data at the PLGF level is determined. The aim of our study was to estimate changes at PIGF level in the first trimester of pregnancy, depending on the maternal anamnesis data among women of Kazakh ethnicity. 63 pregnant women at 12 weeks of gestation were included into the study. All of them were examined with the maternal anamnesis data selection and a pre-gravid body mass index (BMI) was calculated. At the gestational age of 12 weeks, one sample of blood was taken to determine PIGF among tested pregnant women. The level of placental growth factor among the pregnant women under the study ranged from 0.01 to 107.4 pg/ml at 12 weeks, approximately 80% of the pregnant women had a PIGF level below 25 pg/ml. We identified no differences in PIGF level depending on age, weight, pre-gravid BMI, nulliparity, multiparity. We revealed that pregnant women with more than 4,000 grams childbirth in anamnesis had a higher concentration of PIGF (Me= 27.5 pg/ml Q1-17 Q3-63.5), compared with women whose the given factor was absent in the anamne-

sis (Me=14.9 pg/ml Q1-9.7 Q3-23), U=101.5, Z =-2.068, p=0.039. We assume that a low concentration of PIGF among pregnant Kazakhs can be determined by ethnic characteristics, as well as by a decrease in the adaptive capacity of adrenal hormones. We recommend that the study on the ethnic variation of PIGF among pregnant women of Kazakh nationality should be conducted completely.

**Keywords:** placental growth factor, maternal characteristics, Kazakh ethnicity.

## РЕЗЮМЕ

### МАТЕРИНСКИЕ АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ПЛАЦЕНТАРНЫЙ ФАКТОР РОСТА В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ У БЕРЕМЕННЫХ

<sup>1</sup>Мейрамова А.М., <sup>1</sup>Смагулова А.К., <sup>1</sup>Ахетова Н.П.,  
<sup>2</sup>Укыбасова Т.М., <sup>1</sup>Айнабекова Б.А.

<sup>1</sup>АО «Медицинский университет Астана», кафедра внутренних болезней интернатуры; <sup>2</sup>Филиал корпоративного фонда “University Medical Center” Национальный научный центр материнства и детства, Астана, Казахстан

Целью исследования явилась оценка изменения уровня PIGF в I триместре беременности в зависимости от материнских анамнестических данных среди женщин казахской этнической принадлежности.

Обследовано 63 беременных в сроке 12 недель. С учетом анамнестических данных и расчетом прегравидарного индекса массы тела. В 12 недель беременности проведен забор венозной крови для определения PIGF. У исследуемых беременных уровень PIGF варьировал в пределах от 0,01 до 107,4 пг/мл, приблизительно у 80% беременных женщин уровень PIGF составил менее 25 пг/мл. Статистически значимых различий уровня PIGF в зависимости от возраста, веса, прегравидарного ИМТ а также от акушерского анамнеза у исследуемых женщин не выявлено. Необходимо отметить, что беременные, родившие детей весом более 4000 грамм, в анамнезе имели более высокую концентрацию PIGF (Me=27,5 пг/мл Q1-17 Q3-63,5) в сравнении с женщинами, у которых данный фактор в анамнезе отсутствовал (Me=14,9 пг/мл Q1-9,7 Q3-23), U = 101,5, Z = -2,068, p = 0,039.

Опираясь на данные, полученные в результате проведенного исследования, авторы предполагают, что низкая концентрация PIGF среди беременных казахок, по всей вероятности, обусловлена этнической принадлежностью и снижением адаптационных резервов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Рекомендовано проведение дополнительных исследований, направленных на изучение этнической вариации PIGF среди беременных казахской национальности.



## რეზიუმე

დედის ანამნეზური მონაცემები და პლაცენტური ზრდის ფაქტორი ორსულობის პირველ ტრიმესტრში

<sup>1</sup>ა. მეირამოვა, <sup>1</sup>ა. სმაგულოვა, <sup>1</sup>ნ. ასეტოვა, <sup>2</sup>ტ. უკიბასოვა, <sup>2</sup>ბ. აინაბეკოვა

<sup>1</sup>ასტანის სამედიცინო უნივერსიტეტი, ინტერნატურის შინაგან დაავადებათა კათედრა; <sup>2</sup>კორპორაციული ფონდის “University Medical Center” ფილიალი – დედათა და ბავშვთა ეროვნული სამეცნიერო ცენტრი, ასტანა, ყაზახეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა PIGF-ის დონის ცვლილების შეფასება ორსულობის პირველ ტრიმესტრში დედის ანამნეზურ მონაცემებზე დამოკიდებულებით ყაზახური ეთნიკური კუთვნილების ქალებში.

გამოკვლეულია 63 ორსული 12 კვირის ვადაზე. ჩატარდა ორსულების გამოკვლევა ანატომიური თავისებურებების და სხეულის მასის ორსულო-

ბამდელი ინდექსის გათვალისწინებით; ვენური სისხლის აღება წარმოებდა PIGF-ის განსაზღვრის მიზნით. PIGF-ის დონე მერყეობდა 0.01-დან 107.4 პგ/მლ-მდე; ორსულთა დაახლოებით 80%-ს PIGF-ის დონე ჰქონდა 25 პგ/მლ-ზე ნაკლები. PIGF-ის დონის სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება ასაკის, წონის, სხეულის მასის ორსულობამდელი ინდექსის, ასევე, სამეანო ანამნეზის მიხედვით არ გამოვლინდა. ორსულებს, რომელთა ახალშობილების წონა 4000 გრამზე მეტია ანამნეზში ჰქონდათ PIGF-ის უფრო მაღალი კონცენტრაცია (Me=27,5 პგ/მლ Q1-17 Q3-63,5), იმ ქალებთან შედარებით, ვისაც ეს ფაქტორი ორსულობაში არ აღენიშნებოდა (Me=14,9 პგ/მლ Q1-9,7 Q3-23), U=101,5, Z=-2,068, p=0,039). ავტორები დაასკინიან, რომ ყაზახ ორსულებს შორის PIGF-ის დაბალი კონცენტრაცია, როგორც ჩანს, გამოწვეულია ეთნიკური კუთვნილებით, ასევე, ჰიპოთალამუსურ-ჰიპოფიზურ-თირკმელზედა ჯირკვლის სისტემის ადაპტაციური რეზერვების შემცირებით. რეკომენდებულია ყაზახი ეროვნების ორსულებში PIGF-ის ეთნიკური ვარიაციების შესწავლაზე მიმართული დამატებითი კვლევების ჩატარება.

## АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР)

Ониськова О.В., Ющенко Л.А., Тихолаз В.А., Олейник В.С., Моисеенко А.А.

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

Актуальной проблемой современной медицины является профилактика заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека (HPV). Тысячи мужчин и женщин ежегодно погибают от онкологических болезней, связанных с HPV, включая рак шейки матки, заднего прохода, вульвы, влагалища, пениса и ротоглотки [32]. Большинство смертей можно избежать превентивными мерами. Понимание связи HPV с некоторыми типами рака и доступность вакцин представляют собой беспрецедентную возможность для профилактики рака и снижения смертности [53].

В странах со средним и низким уровнем доходов рак шейки матки в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями занимает одно из первых мест среди 10 основных нозологических форм. В Украине данная патология занимает пятое место (5,9%). Удельный вес рака шейки матки в возрастной структуре заболеваемости населения Украины злокачественными новообразованиями среди женщин 18-29 лет составляет 10,5% (третье место), а среди 30-54 лет - 13,6% (второе место). Подобная негативная тенденция наблюдается и в структуре смертности среди

женщин 18-29 лет, составляя 12,6% (первое место), среди 30-54 лет - 16% (второе место) [1,15].

Целью исследования явилось определение особенностей развития папилломавирусной инфекции и путей ее предупреждения для повышения популяризации первичной профилактики вакцинопревентивных болезней.

### *Характеристика и эпидемиология возбудителя*

HPV, ДНК-содержащий вирус, генетический материал которого находится в икосаэдриальном капсиде, состоящем из больших и малых структурных белков, L1 и L2, соответственно [31]. Эти вирусы являются тканеспецифическими и поражают клетки кожи и слизистой оболочки. Вирус распространяется через контакт с инфицированной вирусом поверхностью половых органов, слизистых оболочек, через телесные жидкости, во время сексуального контакта, включая оральный секс [67]. Подтвержденным является высокий риск инфицирования от матери к ребенку особенно до 6-месячного возраста [51]. В большинстве случаев (70-90%) инфицирование является бессимптомным и проявляется спонтанно в течение 1-2 лет.

Интервал между инфицированием и прогрессированием в инвазивную карциному составляет примерно 20 лет, хроническая папилломавирусная инфекция ассоциируется с формированием рака [6]. Причины прогрессирования по сей день не выяснены, однако известно, что имеют значение тип вируса, состояние иммунной системы, коинфекция с другими видами (герпесвирусы, хламидии, гонококки), ранняя беременность, курение [67].

В раковых клетках шейки матки обнаружены 16, 18 типы HPV, тогда как другие встречались реже или вообще не встречаются при онкологических заболеваниях. Именно этот факт был взят за основу классификации HPV, где выделяют HPV высокого и низкого риска [31].

Насчитывают около 40 типов HPV, которые поражают женские половые органы, доказано, что 15 из них связаны с высоким риском развития онкологических заболеваний [55]. Некоторыми исследованиями выявлено присутствие специфических типов HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) при наличии предраковых и цервикальных раковых заболеваний, которые классифицируются как первый тип онкогенности [19]. Среди них наиболее распространены 16 и 18 типы, которые являются причиной 70% случаев заболеваний инвазивной формой рака шейки матки и 50% цервикальных интраэпителиальных неоплазий. Эти вирусы ассоциированы с онкологическими заболеваниями анального канала и ротоглотки [14]. 6 и 11 типы HPV в 90% случаев вызывают генитальные папилломы, а также могут способствовать возникновению такого редкого заболевания как рецидивирующий респираторный папилломатоз, при котором папилломы возникают в гортани и других отделах дыхательной системы с риском обструкции дыхательных путей. Обычно выделяют 2 формы респираторного папилломатоза: при первой ребенок инфицируется от матери и имеет проявления уже в детстве, вторая приобретается путем горизонтального переноса во время сексуальной активности [67].

*Вакцинация против папилломавируса, рекомендуемые графики, эффективность*

Наиболее эффективным методом защиты против HPV считают вакцинацию, так как она обеспечивает высокий уровень антител в организме и длительную защиту, что позволяет считать ее эффективной стратегией уменьшения уровня заболеваний, связанных с HPV [9]. Вакцинация в сочетании с цервикальным скринингом является ключевым элементом предотвращения заболеваний, вызванных HPV [1]. В результате исследований установлено, что проведение прививки только женщин является эффективным и экономически оправданным [8]. В 2017 г. 71 страна мира включила вакцинацию против HPV в свои национальные программы иммунизации для девушек, а 11 стран – и для мальчиков [64].

Впервые вакцина от HPV создана и лицензирована в США в 2006 г. Это была квадριвалентная инактивированная рекомбинантная субъединичная вакцина Gardasil (4vHPV), производимая рекомбинантными *Saccharomyces*. Действие ее направлено против двух онкогенных штаммов: HPV16 и HPV18, и двух неонкогенных: HPV6 и HPV11. Она содержит вирусные частицы L1 белков данных типов вирусов и не способна вызывать заболевания, так как не содержит вирусной ДНК. Эффективность вакцины заключается в стимуляции гуморального ответа. 4vHPV рекомендована для профилактики заболеваний, вызванных вышеперечисленными типами HPV: предраковые заболевания шейки матки, вульвы, влагалища, рак шейки матки и анального канала, генитальные бородавки [42,46,67]. В 2009 г. 4vHPV лицензирована The U.S. Food and Drug Administration (FDA) для использования также у лиц мужского пола [13,22]. Расширение вакцинации для юношей и молодых мужчин, особенно для тех, которые имеют сексуальные отношения с другими мужчинами, может еще больше уменьшить распространенность HPV в популяции и обеспечить непосредственную защиту мужчин от генитальных кондилом, а также анальных, пенисных и орофарингеальных видов рака [9].

На сегодняшний день данная вакцина разрешена как для лиц женского пола в возрасте 9-45 лет, так и мужского в возрасте 9-26 лет и осуществляется согласно графику. Наибольший эффект возможно достигнуть в случае проведения вакцинации в возрасте 11-12 лет, до того времени как подростки станут сексуально активными. Доказано, что частота инфицированности HPV в течение первых 2 лет после начала половой жизни среди женщин достигает 40%, а среди мужчин 60%, что диктует необходимость вакцинации в подростковом возрасте до начала половой жизни [65]. Поздняя вакцинация для тех, кто не был вакцинирован в рекомендуемом возрасте, должна быть завершена как можно скорее, так как эффект от вакцинации снижается в пожилом возрасте [53].

Детям от 9 до 13 лет рекомендуется введение 2 доз с интервалом в 6 месяцев; интервал между дозами может колебаться в пределах от 6 до 12 месяцев [27]. Такой график введения вакцин обеспечивает удовлетворительные иммунологические результаты у девушек-подростков и имеет иммуногенность не ниже, чем после 3 доз у молодых женщин [17,20]. Имеются исследования, в которых указывается эффективность вакцинации при введении 2 доз квадριвалентной вакцины девушкам 15-18 лет, однако они требуют дальнейшего уточнения и подтверждения [34]. Вакцину вводят внутримышечно, преимущественно в дельтовидную мышцу, по 0,5 мл. Если вторая доза назначается ранее, чем через шесть месяцев после первой дозы, то всегда должна быть введена третья доза. Для лиц в возрасте от 14 лет и выше 4vHPV, как правило, вводят в соответствии с графиком тремя дозами:

вторую дозу вводят спустя два месяца после первой, а третью – спустя шесть месяцев после второй. Подобный трёхдозовый график может использоваться и у лиц в возрасте от девяти до тринадцати лет. Между первой и второй дозами должно быть не менее одного месяца и, по крайней мере, три месяца между второй и третьей; все дозы следует ввести в течение года. Лицам, получившим первую дозу 4vHPV, рекомендуется завершение режима дозирования этой же вакциной. В случае прерывания графика вакцинации, начинать его сначала не следует, необходимо ввести недостающие дозы [53]. В сложных ситуациях, когда дети подвергаются сексуальному насилию и не получали прививок против HPV, они должны быть вакцинированы в возрасте 9 лет [41].

Молодой возраст при проведении вакцинации является обязательным условием для достижения максимальной эффективности от квадριвалентной вакцины [40]. Чрезвычайно эффективной и экономически выгодной стратегией профилактики рака шейки матки является не только вакцинация против HPV для девушек перед началом сексуального дебюта, но также вакцинация женщин до 25 лет [63].

Второй лицензированной в 2007 г. вакциной против HPV является рекомбинантная бивалентная вакцина Cervarix (2vHPV), продуцируемая рекомбинантными baculovirus. Она изготовлена на основе главного капсидного протеина L1, полученного из вирусных штаммов 16 и 18 типов. Вакцина показана для профилактики персистирующей инфекции, предопухолевых поражений шейки матки, вульвы и влагалища и рака шейки матки, обусловленных 16 и 18 онкогенными типами HPV. Согласно инструкции производителя, 2vHPV рекомендована для использования только у лиц женского пола, начиная с девятилетнего возраста. Разовая доза вакцины составляет 0,5 мл внутримышечно, преимущественно в дельтовидную мышцу и одинакова для детей и взрослых.

График вакцинации зависит от возраста. Начиная с 9-летнего возраста и до 14 лет 2vHPV можно применять в соответствии с двухдозовым или трёхдозовым графиком. Начиная с 15-летнего возраста, рекомендуется только трёхдозовый график вакцинации. Две дозы вводятся с промежутком в 5-13 месяцев. Если вторая доза введена раньше 5 месяцев после введения первой, необходимо назначение третьей дозы вакцины [29]. Исследователи указывают на высокий серологический ответ после введения 2 доз бивалентной вакцины 2vHPV в сравнении с двух- или трёхдозовым режимом введения вакцины 4vHPV девушкам 9-14 лет [21]. В случае введения первой дозы вакцины девочке старше 15 лет рекомендуется проводить трёхдозовое прививание с должным интервалом: вторую дозу ввести спустя 1-2,5 месяца после первой, третью - спустя 5-12 месяцев после первой. В результате клинических исследований установлено, что 2vHPV имеет 91% эффективность у женщин в группе старше

25 лет, на протяжении не менее 7 лет [26]. Именно поэтому вопрос о вакцинации может быть рассмотрен в этой возрастной категории с индивидуальным подходом к каждой женщине, так как для большинства это может иметь положительный эффект [12].

Безопасность вакцины 2vHPV изучена на основании 11 рандомизированных клинических исследований среди женщин в возрасте от 10 до 25 лет. Ученые выяснили, что в течение 30 дней после вакцинации у женщин отсутствуют такие локальные симптомы как боль, отек и покраснение в местах введения препарата, не отмечаются и общие симптомы: повышенная утомляемость, миалгия, головная боль. Во время ретроспективного обследования 29953 лиц женского пола только у 5,3% женщин в сравнении с 5,9% контрольной группы обнаружены серьезные побочные эффекты [18]. В результате проведенного мета-анализа баз данных по прививкам 2vHPV исследователи получили данные о том, что у 12533 привитых женщин в сравнении с 10730 лицами контрольной группы показатели развития аутоиммунных заболеваний были одинаковыми и составили 0,8% [60]. Прослежена лишь связь с возникновением синдрома Гийена-Барре [47].

Результаты десятилетнего наблюдения после вакцинации адьювантной 2vHPV демонстрируют длительную эффективность против цервикальной интраэпителиальной неоплазии третьей степени и инвазивного рака независимо от типа HPV. Полученные данные позволяют подтвердить наличие перекрестной защитной эффективности 2vHPV от 31, 33, 45 типов, зарегистрированной в клинических испытаниях [39,43,46]. Показано также отсутствие доказательств перекрестной защиты данной вакцины против 6 и 11 типов [66].

Третьей существующей вакциной против HPV стала 9-валентная рекомбинантная вакцина Gardasil 9 (9vHPV), лицензированная FDA в декабре 2014 г. [49], которая является активной против 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 штаммов HPV [33]. Она имеет защитный потенциал против 90% раковых поражений шейки матки в сравнении с потенциалом 4vHPV, которая способна защитить только от 70% [68]. Она также является экономически эффективной и может расширить спектр защиты от рака шейки матки, доступный через вакцинацию [9]. 9vHPV рекомендована к использованию для лиц женского и мужского пола в возрасте от 9 до 26 лет. Календарь введения 9vHPV совпадает с таковым для 4vHPV. Детям от 9 до 14 лет разрешены для использования двух- и трёхдозовые схемы: 0, 6-12 и 0, 2, 6, соответственно. Для лиц от 15 до 26 лет рекомендуются три дозы: 0, 2, 6. Трёхдозовый режим введения 9vHPV индуцирует персистенцию антител не менее 5 лет [25]. Не является обязательным введение 9vHPV детям, которые уже получили рутинную вакцинацию би- или квадριвалентными вакцинами. Дозой вакцины 9vHPV можно заменить 4vHPV в случае незавер-

шенной рутинной иммунизации. В мета-анализе продемонстрирована безопасность 9vHPV в сравнении с 4vHPV для девушек и молодых женщин [16].

Вакцина 9vHPV является эффективной, иммуногенной и в целом хорошо переносится, что подтверждено результатами двух глобальных клинических испытаний в Латинской Америке [52]. Показано [48], что иммуногенность вакцины 9vHPV была достаточной среди лиц различных демографических подгрупп, определенных по полу, расе и региону проживания. Большая иммуногенность отмечена среди девушек и парней в сравнении с молодыми женщинами (группа, которая использовалась для установления эффективности вакцинации 9vHPV в клинических исследованиях), что указывает на высокую защитную эффективность. Этот профиль иммуногенности поддерживает широкомасштабную программу вакцинации 9vHPV в пре- и пубертатном возрасте. С января 2017 г. единственной доступной вакциной в США стала девятивалентная вакцина 9vHPV [27].

Эффективность вакцинации показана в результатах многих исследований. Так, в Швеции отмечено сокращение заболеваемости кондиломами, как среди женщин, так и мужчин уже спустя шесть лет после введения вакцинации против HPV. При этом охват вакцинацией был достаточно низким (в пределах 30%) среди женщин и не включал мужчин вообще [53].

Установлено, что 9vHPV и 2vHPV эквивалентны по эффективности против цервикальной интраэпителиальной неоплазии 2 градации независимо от типа HPV [26].

Вакцина 9vHPV потенциально может предотвратить большинство цервикальных интраэпителиальных неоплазий 1-3 градации независимо от географического региона. Несмотря на это, невакцинные типы HPV 35, 39, 51, 56, 59 могут и в дальнейшем вызвать цервикальные интраэпителиальные неоплазии 1 градации и, в меньшей степени - 2 и 3 градации, что требует дальнейшего проведения цервикального скрининга [34,49].

Результаты исследований показали, что серологический ответ после 2 доз вакцин против HPV у детей 9-14 лет столь же хорош или даже лучше, чем ответ после 3 доз в старшей возрастной группе. Данный факт позволил Centers for Disease Control and Prevention (CDC) рекомендовать с октября 2016 г. введение двух доз HPV вакцин для детей до 15 лет [26,43,46]. К февралю 2017 г. 23 страны с низким и средним уровнем дохода и 25 стран с высоким уровнем дохода утвердили график вакцинации по введению двух доз вакцин против HPV [17].

Следует отметить, что лица, инфицированные онкогенными типами HPV, могут оставаться чувствительными к повторной инфекции, несмотря на выявление иммунных реакций к HPV. Чтобы исследовать этот вопрос, был определен уровень В-клеток памяти

до и после вакцинации у пяти ранее инфицированных лиц. Установлено, что вакцинация повышает содержание специфических антител против HPV и уровень В-клеток памяти, что указывает на повышение естественного иммунитета против HPV у ранее инфицированных лиц [54].

FDA одобрили все 3 безопасные вакцины, которые рекомендуются девочкам и мальчикам в возрасте 11-12 лет (хотя могут вводиться с 9 лет) и могут быть введены женщинам и мужчинам до достижения 26 лет. Рекомендуются вакцины являются частью подростковой платформы, которая создана с целью снижения уровня генитального рака, ассоциированного с HPV [30].

Все вакцины против HPV являются профилактическими, а не терапевтическими, они предотвращают инфицирование и не проводят лечение, и менее эффективны у лиц с уже имеющейся папилломавирусной инфекцией [57]. Перед проведением прививки не рекомендуется проводить тесты на выявление HPV. Вакцинация рекомендована даже в случае положительного Paptest на HPV или наличия в анамнезе перенесенного заболевания, вызванного данной группой вирусов [30].

Вакцинация противопоказана лицам, которые имеют в анамнезе аллергические реакции немедленного типа к какому-либо вакцинному компоненту. Так как 4vHPV и 9vHPV производятся *Saccharomyces*, то они противопоказаны лицам, имеющим повышенную чувствительность к дрожжевым грибам. Заполненные шприцы 2vHPV имеют латекс в резиновой пробке, поэтому не должны использоваться у лиц с аллергией на латекс [14]. Не рекомендуется проведение прививок при острых тяжелых заболеваниях.

Прививки, как правило, не проводятся беременным женщинам. Обычно график вакцинации продолжают после родов, так как лактация не является противопоказанием к прививке для женщин до 26 лет, в случае, если рутинный график вакцинации не был завершен ранее [30]. Так как вакцина не содержит живых вирусов, она может быть рекомендована лицам с иммунодефицитными заболеваниями или находящимся на иммуносупрессивной терапии, однако, эффективность иммунного ответа на прививку может быть меньше в сравнении с иммунокомпетентными лицами [14]. Установлено, что у лиц с нарушениями иммунитета отмечается повышенный риск инфицирования HPV в сравнении с иммунокомпетентными, поэтому именно им рекомендуется проведение данных прививок, что является безопасным и иммуногенным. При этом используют 3-дозовый график введения [24].

Во избежание серьезных повреждений, связанных с синкопальными состояниями, которые могут возникнуть при проведении прививок, рекомендуется наблюдение за пациентами в течение 15 минут после проведения вакцинации.



### *Побочные эффекты вакцин*

Возможными побочными эффектами являются обмороки, пирексия и аллергические реакции. В клинических исследованиях установлено, что они развивались с частотой 2,5% среди репрезентативной выборки в 15705 лиц. Другие неблагоприятные эффекты, такие как покраснение, отечность, боль в месте инъекции, головная боль и слабость развивались с такой же частотой, как и при введении би- и квадριвалентных вакцин, и примерно в одинаковом соотношении между детьми обоих полов [23]. Значимых различий в выявлении побочных эффектов между группами женщин, которые получали квадρι- и девятивалентные вакцины не наблюдалось. Серьезные побочные действия были одинаково редкими в обеих группах, что демонстрирует безопасность, как квадρι-, так и девятивалентных вакцин [16]. Зарегистрированные ранее симптомы (24 случая), которые возникли после получения вакцины против HPV, не нашли подтверждения наличия причинно-следственной связи [58].

### *Пути повышения охвата вакцинацией*

Иммунизация против заболеваний, которые можно профилактировать при помощи прививок является значимым компонентом первичной медицинской помощи. Несмотря на важность вакцинации и наличие рекомендованных инструкций, уровни вакцинации в некоторых странах отстают от национальных целей [3]. Так, Committee on Adolescent Health Care Immunization Expert Work отметил недопустимо низкие уровни в рекомендуемых возрастных группах (только 41,9% девушек и 28,1% юношей получили все рекомендованные дозы) [30,50]. Американскими учеными доказано, что частыми причинами отказов от вакцинации против HPV является низкая информированность и недостаток знаний об этой вакцине [59]. Для женщин старшей возрастной группы (после 27 лет) приоритетными оказались: стоимость вакцины, временные ограничения, график с тремя дозами, убеждение, что женщины этой возрастной группы имеют низкий риск инфицирования, отсутствие осведомленности о вакцине и неопределенность относительно преимуществ этой вакцины для женщин данной возрастной группы [44]. Именно поэтому повышение осведомленности в сочетании с различными образовательными документами будет работать в пользу повышения охвата иммунизацией. Интересно, что в 81% случаев опрошенные врачи (гинекологи и отоларингологи) не были привиты против HPV, хотя и относились к вакцинации положительно и даже рассматривали возможность проведения вакцинации в будущем. Эти данные могут быть использованы для усиления внедрения вакцинации против HPV среди врачей и их пациентов [56].

Недостаточная четкость руководящих документов определена как фактор, связанный с поведенческой инерцией и неудачами в клинической практике. Дан-

ные наблюдения свидетельствуют о значимости инициирования врачом проведения бесед о значимости вакцинации против HPV, чтобы начать и завершить серию прививок в возрасте 11-12 лет. Результаты исследований в сочетании с новыми литературными данными о работе семейных врачей относительно охвата вакцинацией против HPV могут помочь в разработке дополнительных усилий, необходимых для улучшения использования вакцин. Усилия по повышению уровня вакцинации должны также сосредоточиться на решении проблемных барьеров, связанных с невыполнением клинических рекомендаций в этой важной сфере [37,49,67].

По данным немецких ученых, информацию о вакцинации против HPV девушкам-подросткам и молодым женщинам в 97% случаев предоставляют гинекологи, поэтому гинекологам необходимо напоминать об их значительной роли в профилактике вакцинпревентивных заболеваний. Иммунизация и коммуникативные навыки должны рассматриваться более тщательно как неотъемлемая часть медицинского образования и дальнейшего обучения для гинекологов [4]. Американские ученые также считают, что именно акушер-гинекологи должны играть ключевую роль в снижении заболеваемости от ряда вакцинпревентивных болезней, включая HPV. Прививки демонстрируют эффективность и безопасность, а также большой потенциал для профилактики многих инфекционных болезней, которые поражают взрослых, новорожденных, беременных, поэтому акушер-гинекологи должны рассматривать иммунизацию как интегральную часть своей практики [30]. Значительная роль отводится также обучению родителей и пациентов вопросам безопасности, эффективности и преимуществ вакцинации против HPV. Руководящие документы призывают врачей и медицинских работников поддерживать, способствовать и соблюдать рекомендации по иммунизации [3,62]. Кроме того, поскольку врачи имеют большое влияние на процесс принятия решений родителями, необходимо разработать стратегии, направленные на ликвидацию нерешительности врача, ориентируясь как на педиатра, так и на врача общей практики. Учебные мероприятия, ориентированные на врачей и отдельные группы населения, которые имеют низкие уровни вакцинации, могут помочь повысить охват вакцинацией [38].

Сегодня создаются специальные модели, которые способны предвидеть влияние вакцинации на уровень эпидемиологии HPV 6, 11, 16 и 18 типов в странах с высоким уровнем дохода. Известно, что популяционные прогнозы могут иметь некоторые отличия, но, в целом, считаются конкордантными. Они указывают, что ожидается сильное влияние на уровень инфицированности HPV даже от прививания девушек, если охват составит лишь 20%. Ликвидация HPV 16, 18, 6 и 11 возможна, при условии 80% охвата вакцинацией среди девушек и парней и сохранением высокой эф-

фективности вакцин с течением времени [7]. Пиковый возраст выявления цервикального рака изменится и перейдет из возрастной категории 25-29 лет в 2011-15 гг. в категорию 55-59 лет в 2036-40 гг. [11].

Экономические преимущества вакцинации зависят от продолжительности иммунной защиты, которые будут оптимизированы путем достижения высокого уровня охвата прививками девушек, находящихся в подростковом возрасте, восполнения надлежащего уровня вакцинации среди женщин 18-26 лет и пересмотра скрининговых программ [36].

Вакцинация в детском возрасте резко снизила уровень заболеваемости и смертности в США. Недавние исследования по иммунизации детей и подростков сосредоточены на расширении использования современных вакцин для дополнительных субпопуляций, а также разработке новых вакцин. В частности, данные, подтверждающие безопасность и иммуногенность вакцин в различных группах детей, сформировали национальные рекомендации. Исследования по усвоению вакцин, рентабельности и влиянию вакцинации диктуют необходимость соблюдения этих рекомендаций. Поставщики вакцин, медицинские работники и родители должны способствовать увеличению уровня охвата вакцинацией и улучшению защиты детей и подростков от этих серьезных заболеваний. Дальнейшие исследования детской и подростковой вакцинации продолжают формировать будущие рекомендации, обеспечивая оптимизацию защиты детей и подростков от вакцинпревентивных болезней [35].

Стратегии улучшения вакцинации против HPV делятся на три категории: 1) устранение недостаточной осведомленности о значимости вакцинации против HPV среди населения и провайдеров; 2) отстаивания изменений в политике по охвату вакцинацией против HPV, постоянное обучение, проведение вакцинации на базе аптеки, школы; 3) координация усилий [5,10].

Консультативный комитет по вопросам иммунизации США рекомендует подросткам 11-12 лет получать иммунизацию против HPV, что предоставляет значительные возможности для дальнейшего увеличения профилактики онкологических заболеваний, связанных с HPV, и является доказанным фактом [61].

**Выводы.** Анализ ретроспективной и текущей научной литературы выявил, что наиболее распространенными онкогенными типами папилломавируса человека являются 16 и 18, которые вызывают 70% случаев заболеваний инвазивными формами рака шейки матки и 50% цервикальных интраэпителиальных неоплазий.

Вакцинация в сочетании с цервикальным скринингом являются ключевыми элементами предотвращения заболеваний, вызванных папилломавирусом. Доказана безопасность трех вакцин против папилломавирусной инфекции (2vHPV, 4vHPV, 9vHPV), которые рекомендованы для лиц женского и мужского пола в возрасте от 9 до 26 лет, но наиболее эффективны в 11-12 лет.

Необходимо разработать стратегии для улучшения охвата вакцинацией против папилломавируса, направленные на устранение недостаточной осведомленности о значимости вакцинации против вируса папилломы человека среди населения, оптимизацию графиков иммунизации, внедрение образовательных программ и социальной рекламы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Національний інститут раку. Бюлетень Національного канцер-реєстру № 19 - "Рак в Україні, 2016-2017". Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Київ, 2018.
2. Adesoye AA., Louis L, Murray B, Ayoola A. HPV Infection and Warts: Review and Recent Updates. US Pharm. 2017, Apr 1.
3. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Gynecologic Practice, Committee on Obstetric Practice, and Immunization Expert Work Group. Committee Opinion No. 661: Integrating Immunizations Into Practice. Obstet Gynecol. 2016 Apr;127(4):e104-7.
4. Bödeker B, Seefeld L, Buck S, Ommen O, Wichmann O. Implementation of seasonal influenza and human papillomavirus vaccination recommendations in gynecological practices in Germany. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2016 Mar;59(3):396-404.
5. Bonner K, Banura C, Basta NE. HPV vaccination strategies targeting hard-to-reach populations: Out-of-school girls in LMICs. Vaccine. 2018 Jan 4;36(2):191-193.
6. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol. 2002 Apr;55(4):244-65.
7. Brisson M, Bénard É, Drolet M, Bogaards JA, Baussano I, Vänskä S et al. Population-level impact, herd immunity, and elimination after human papillomavirus vaccination: a systematic review and meta-analysis of predictions from transmission-dynamic models. Lancet Public Health. 2016 Nov;1(1):e8-e17.
8. Brisson M, Van de Velde N, Boily MC. Economic evaluation of human papillomavirus vaccination in developed countries. Public Health Genomics. 2009;12(5-6):343-51.
9. Brotherton JM, Ogilvie GS. Current status of human papillomavirus vaccination. Curr Opin Oncol. 2015 Sep;27(5):399-404.
10. Cartmell KB, Young-Pierce J, McGue S, Alberg AJ, Luque JS, Zubizarreta M et al. Barriers, facilitators, and potential strategies for increasing HPV vaccination: A statewide assessment to inform action. Papillomavirus Res. 2017 Dec 7;5:21-31.
11. Castanon A, Landy R, Pesola F, Windridge P, Sasieni P et al. Prediction of cervical cancer incidence in England, UK, up to 2040, under four scenarios: a modelling study. Lancet Public Health. 2018 Jan;3(1):e34-e43.
12. Castellsagué X, Schneider A, Kaufmann AM, Bosch FX. HPV vaccination against cervical cancer in women above 25 years of age: key considerations and current perspectives. Gynecol Oncol. 2009 Dec;115(3 Suppl):S15-23.
13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). FDA licensure of quadrivalent human papillomavirus vaccine (HPV4, Gardasil) for use in males and guidance from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2010 May 28;59(20):630-2.
14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). FDA licensure of bivalent human papillomavirus vaccine (HPV2, Cervarix) for use in females and updated HPV vaccination rec-

- ommendations from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010 May 28;59(20):626-9.
15. Clifford G, Franceschi S, Diaz M, Munoz N, Villa LL. Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. *Vaccine* 2006 Aug 31; 24:Suppl 3:S26-S34.
16. Costa APF, Cobucci RNO, da Silva JM, da Costa Lima PH, Giraldo PC, Gonçalves AK. Safety of Human Papillomavirus 9-Valent Vaccine: A Meta-Analysis of Randomized Trials. *J Immunol Res.* 2017;2017:3736201.
17. D'Addario M, Redmond S, Scott P, Egli-Gany D, Riveros-Balta AX, HenaoRestrepo AM et al. Two-dose schedules for human papillomavirus vaccine: Systematic review and meta-analysis. *Vaccine.* 2017 May 19;35(22):2892-2901.
18. Descamps D, Hardt K, Spiessens B, Izurieta P, Verstraeten T, Breuer T et al. Safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine for cervical cancer prevention: a pooled analysis of 11 clinical trials. *Hum Vaccin.* 2009 May;5(5):332-40.
19. Dillner J. Prevention of human papillomavirus-associated cancers. *Semin Oncol.* 2015 Apr;42(2):272-83.
20. Donken R, Knol MJ, Bogaards JA, van der Klis FR, Meijer CJ, de Melker HE. Inconclusive evidence for non-inferior immunogenicity of two- compared with three-dose HPV immunization schedules in preadolescent girls: A systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2015 Jul;71(1):61-73.
21. FanLeung T, Pak-Yin Liu A, Fong Seng Lim, Thollot F, Lin Oh HM, WahLee B et al. Comparative immunogenicity and safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine and 4vHPV vaccine administered according to two- or three-dose schedules in girls aged 9-14 years: Results to month 36 from a randomized trial. *Vaccine* 2018; Jan 2;36(1):98-106.
22. Gardasil (human papillomavirus quadrivalent [types 6, 11, 16, and 18] vaccine, recombinant) package insert. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co, Inc. 2014.
23. Gardasil 9 (human papillomavirus 9-valent vaccine, recombinant) package insert. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co, Inc. Revised December 2015. [www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM426457.pdf](http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM426457.pdf). Accessed May 16, 2016.
24. Garland SM, Brotherton JML, Moscicki AM, Kaufmann M, Stanley M, Bhatla N et al. HPV vaccination of immunocompromised hosts. *Papillomavirus Res.* 2017 Dec;4:35-38/
25. Guevara A, Cabello R, Woelber L, Moreira ED Jr, Joura E, Reich O et al. Antibody persistence and evidence of immune memory at 5 years following administration of the 9-valent HPV vaccine. *Vaccine.* 2017 Sep 5;35(37):5050-5057.
26. Harper DM, DeMars LR. HPV vaccines - A review of the first decade. *GynecolOncol.* 2017 Jul;146(1):196-204.
27. Henry H, Bernstein, Joseph A, Bocchini Jr, COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES. The Need to Optimize Adolescent Immunization. *Pediatrics.* 2017 Mar;139(3).
28. Herweijer E, Ploner A, Sparén P. Substantially reduced incidence of genital warts in women and men six years after HPV vaccine availability in Sweden. *Vaccine.* 2018 Apr 5;36(15):1917-1920.
29. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, October 2014. *WklyEpidemiol Rec.* 2014 Oct 24;89(43):465-91.
30. Immunization Expert Work Group, Committee on Adolescent Health Care. Committee Opinion No. 704: Human Papillomavirus Vaccination. *Obstet Gynecol.* 2017 Jun;129(6): e173-e178.
31. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 90. Human Papillomaviruses. France: Lyon, 2005.
32. International Papillomavirus Society. Policy statement on safety of HPV vaccines. *Papillomavirus Res.* 2016 Dec;2:9-10.
33. Joura EA, Giuliano AR, Iversen OE, Bouchard C, Mao C, Mehls J et al. A 9-Valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *N Engl J Med.* 2015 Feb 19;372(8):711-23.
34. Julsgaard M, Christensen LA, Gibson PR, Garry RB, Fallingborg J, Hvas CL et al. Concentrations of Adalimumab and Infliximab in Mothers and Newborns, and Effects on Infection. *Gastroenterology.* 2016 Jul;151(1):110-9.
35. Kao CM, Schneyer RJ, Bocchini JA Jr. Child and adolescent immunizations: selected review of recent US recommendations and literature. *Curr Opin Pediatr.* 2014 Jun;26(3):383-95.
36. Kim JJ, Goldie SJ. Health and Economic Implications of HPV Vaccination in the United States. *N Engl J Med* 2008 Aug 21; 359(8):821-32.
37. Kulczycki A, Qu H, Shewchuk R. Primary Care Physicians' Adherence to Guidelines and Their Likelihood to Prescribe the Human Papillomavirus Vaccine for 11- and 12-Year-Old Girls. *Womens Health Issues.* 2016 Jan-Feb;26(1):34-9.
38. Latsuzbaia A, Arbyn M, Weyers S, Mossong J. Human papillomavirus vaccination coverage in Luxembourg - Implications of lowering and restricting target age groups. *Vaccine.* 2018 Apr 25;36(18):2411-2416.
39. Lehtinen M, Lagheden C, Luostarinen T, Eriksson T, Apter D, Harjula K et al. Ten-year follow-up of human papillomavirus vaccine efficacy against the most stringent cervical neoplasia end-point-registry-based follow-up of three cohorts from randomized trials. *BMJ Open.* 2017 Aug 18;7(8):e015867.
40. Leval A, Herweijer E, Ploner A, Eloranta S, Fridman Simard J, Dillner J et al. Quadrivalent human papillomavirus vaccine effectiveness: a Swedish national cohort study. *J Natl Cancer Inst.* 2013 Apr 3;105(7):469-74.
41. Markowitz LE, Dunne EF, Saraiya M, Chesson HW, Curtis CR, Gee J et al. Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep.* 2014 Aug 29;63(RR-05):1-30.
42. Markowitz LE, Dunne EF, Saraiya M, Lawson HW, Chesson H, Unger ER; Centers for Disease Control and Prevention (CDC); Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep.* 2007 Mar 23;56(RR-2):1-24.
43. Markowitz LE, Gee J, Chesson H, Stokley S. Ten Years of Human Papillomavirus Vaccination in the United States. *Acad-Pediatr.* 2018 Mar;18(2S):S3-S10.
44. Mazza D, Petrovic K, Grech C, Harris N. HPV vaccination in women aged 27 to 45 years: what do general practitioners think? *BMC Womens Health.* 2014 Jul 30;14:91.
45. Meites E, Kempe A, Markowitz LE. Use of a 2-Dose Schedule for Human Papillomavirus Vaccination - Updated Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016, Dec;65(49):1405-1408.
46. Min KJ, Kwon SH, Kim S, Kim HJ, Seong SJ, Song YJ et al. Preventive vaccination against cervical cancer: Korean Society of Gynecologic Oncology Guideline. *J GynecolOncol.* 2016 May;27(3):e30.
47. Miranda S, Chaignot C, Collin C, Dray-Spira R, Weill A, Zureik M. Human papillomavirus vaccination and risk of autoimmune diseases: A large cohort study of over 2million young girls in France. *Vaccine.* 2017 Aug 24;35(36):4761-4768.



48. Petersen LK, Restrepo J, Moreira ED Jr, Iversen OE, Pitisutthum P, Van Damme P et al. Impact of baseline covariates on the immunogenicity of the 9-valent HPV vaccine - A combined analysis of five phase III clinical trials. *Papillomavirus Res.* 2017 Jun;3:105-115.

49. Petrosky E, Bocchini JA Jr, Hariri S, Chesson H, Curtis CR, Saraiya M et al. Use of 9-valent human papillomavirus (HPV) vaccine: updated HPV vaccination recommendations of the advisory committee on immunization practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2015 Mar 27;64(11):300-4.

50. Reagan-Steiner S, Yankey D, Jeyarajah J, Elam-Evans LD, Curtis CR, MacNeil J et al. National, regional, state, and selected local area vaccination coverage among adolescents aged 13-17 years - United States, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:850-8.

51. Rintala MA, Grénman SE, Puranen MH, Isolauri E, Ekblad U, Kero PO et al. Transmission of High-Risk Human Papillomavirus (HPV) between Parents and Infant: a prospective Study of HPV in Families in Finland. *J Clin Microbiol.* 2005 Jan;43(1):376-81.

52. Ruiz-Sternberg AM, Moreira ED Jr, Restrepo JA, Lazcano-Ponce E, Cabello R, Silva A et al. Efficacy, immunogenicity, and safety of a 9-valent human papillomavirus vaccine in Latin American girls, boys, and young women. *Papillomavirus Res.* 2017 Dec 19;5:63-74.

53. Saslow D, Andrews KS, Manassaram-Baptiste D, Loomer L, Lam KE, Fisher-Borne M, Smith RA, Fontham ET; American Cancer Society Guideline Development Group. Human papillomavirus vaccination guideline update: American Cancer Society guideline endorsement. *CA Cancer J Clin.* 2016 Sep;66(5):375-85.

54. Scherer EM, Smith RA, Gallego DF, Carter JJ, Wipf GC, Hoyos M et al. A Single Human Papillomavirus Vaccine Dose Improves B Cell Memory in Previously Infected Subjects. *EBioMedicine.* 2016 Aug;10:55-64.

55. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet.* 2007 Sep 8;370(9590):890-907.

56. Stanley C, Senter M, Chauvin S, Selk A. HPV vaccination in male physicians: A survey of gynecologists and otolaryngology surgeons' attitudes towards vaccination in themselves and their patients. *Papillomavirus Res.* 2018 Mar 7;5:89-95.

57. Stanley MA. Human papillomavirus vaccines. *Rev Med Virol.* 2006 May-Jun;16(3):139-49.

58. Suzuki S, Hosono A. No association between HPV vaccine and reported post-vaccination symptoms in Japanese young women: Results of the Nagoya study. *Papillomavirus Res.* 2018 Feb 23;5:96-103.

59. Thompson EL, Rosen BL, Vamos CA, Kadono M, Daley EM. Human Papillomavirus Vaccination: What Are the Reasons for Nonvaccination Among U.S. Adolescents? *J Adolesc Health.* 2017 Sep;61(3):288-293.

60. Verstraeten T, Descamps D, David MP, Zahaf T, Hardt K, Izurieta P et al. Analysis of adverse events of potential autoimmune aetiology in a large integrated safety database of AS04 adjuvanted vaccines. *Vaccine.* 2008 Dec 2;26(51):6630-8.

61. Walker TY, Elam-Evans LD, Singleton JA, Yankey D, Markowitz LE, Fredua B et al. National, Regional, State, and Selected Local Area Vaccination Coverage Among Adolescents Aged 13-17 Years - United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2017 Aug 25;66(33):874-882.

62. Ward EM, Flowers CR, Gansler T, Omer SB, Bednarczyk RA. The importance of immunization in cancer preven-

tion, treatment, and survivorship. *CA Cancer J Clin.* 2017 Sep;67(5):398-410.

63. Westra TA1, Rozenbaum MH, Rogoza RM, Nijman HW, Daemen T, Postma MJ et al. Until which age should women be vaccinated against HPV infection? Recommendation based on cost-effectiveness analyses. *J Infect Dis.* 2011 Aug 1;204(3):377-84.

64. WHO/ Immunization, Vaccines and Biologicals database, as of 31 March 2017. Available at [http://www.who.int/entity/immunization/monitoring\\_surveillance/VaccineIntroStatus.pptx](http://www.who.int/entity/immunization/monitoring_surveillance/VaccineIntroStatus.pptx), accessed February 2017.

65. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol.* 2003 Feb 1;157(3):218-26.

66. Woestenbergab PJ, King AJ, van der Sandeac M AB, Donken R, Leussinka S, van der Klis FR. No evidence for cross-protection of the HPV-16/18 vaccine against HPV-6/11 positivity in female STI clinic visitors. *J Infect.* 2017 Apr;74(4):393-400.

67. World Health Organization. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017-Recommendations. *Vaccine.* 2017 Oct 13;35(43):5753-5755.

68. Yang DY, Bracken K. Update on the new 9-valent vaccine for human papillomavirus prevention. *Can Fam Physician.* 2016 May;62(5):399-402.

## SUMMARY

### CURRENT ISSUES OF THE PAPILLOMAVIRUS INFECTION PREVENTION (REVIEW)

**Oniskova O., Yushchenko L., Tikholaz V., Oleynik V., Moiseenko A.**

*National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine*

Human papillomavirus, which associates with cervical cancer and anal cancer, is a current issue. Many cases of genital cancers can be prevented by vaccination. It is considered to be the most effective method of prevention of human papillomavirus infection, due to providing a high level of vaccine-induced circulating antibodies and prolonged protection. The article describes the features of prophylactic human papillomavirus vaccines, which were approved by the World Health Organization. Vaccine schedules for persons of different age group, administration, efficiency, safety, immunogenicity, contraindications are considered in the article. High vaccine effectiveness has been evaluated during analyzing scientific research about prevention of lesions associated with human papillomavirus. Even low levels of vaccination coverage provide a significant reduction of vaccine-preventive mortality. Human papillomavirus vaccination program should be developed to increase the level of vaccination coverage, concerning the elimination of insufficient awareness of the importance of human papillomavirus vaccination, the optimization of immunization schedules, the introduction of educational programs and social advertising.



**Keywords:** human papillomavirus, vaccine schedules, vaccination, prevention.

## РЕЗЮМЕ

### АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР)

Ониськова О.В., Ющенко Л.А., Тихолаз В.А., Олейник В.С., Моисеенко А.А.

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

Папилломавирус человека, ассоциированный с раком шейки матки и раком анального канала, является актуальной проблемой современности. Большинство случаев онкологических заболеваний половых органов могут быть предупреждены с помощью вакцинации. Вакцинация считается наиболее эффективным методом защиты против вируса папилломы человека, так как обеспечивает высокий уровень вакцининоиндуцированных антител в организме и длительную защиту. В статье изложены особенности назначения одобренных Всемирной организацией здравоохранения вакцин против вируса папилломы человека. Подробно рассмотрены графики назначения для лиц разных возрастных категорий, эффективность, безопасность, иммуногенность, противопоказания. В результате проведенного анализа научной литературы по профилактике папилломавирус-ассоциированных повреждений установлена высокая эффективность вакцинации. Даже невысокие уровни охвата вакцинацией обеспечивают значительное снижение случаев вакцинпревентивных заболеваний. Авторы считают необходимым разработку стратегии для повышения уровня вакцинации против папилломавируса, направленной на устранение недостаточной осведомленности о значимости вакцинации против вируса папилломы человека среди населения, оптимизацию графиков иммунизации, внедрение образовательных программ и социальной рекламы.

## რეზიუმე

პაპილომა-ვირუსული ინფექციის პროფილაქტიკის აქტუალური საკითხები (მიმოხილვა)

ო.ონისკოვა, ლ.იუშჩენკო, ვ. ტიხოლაზი, ვ. ოლეინიკი, ა. მოისეენკო

ვინიცის ნ.პიროგოვის სახელობის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

საშიფლოსნოს ყელის კიბოსა და ანუსური არ-ხის კიბოსთან ასოცირებული ადამიანის პაპილომა-ვირუსი თანამედროვეობის აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს. სასქესო ორგანოების ონკოლოგიურ დაავადებათა უმეტესობის პროფილაქტიკა ვაქცინაციით არის შესაძლებელი. ეს საშუალება ადამიანის პაპილომა-ვირუსისგან დაცვის ყველაზე ეფექტურ მეთოდად ითვლება, უზრუნველყოფს რა ვაქცინაციის მიხედვით ანტი-ვირუსული მალა დონეს ორგანიზმში და მის ხანგრძლივ დაცვას. სტატიაში აღწერილია ჯანმო-ს მიერ მოწონებული დანიშნულებანი ადამიანის პაპილომა-ვირუსის საწინააღმდეგო ვაქცინებთან დაკავშირებით. დეტალურადაა განხილული დანიშნის გრაფიკი სხვადასხვა ასაკობრივი ჯგუფის ადამიანებისათვის, ეფექტურობა, უსაფრთხოება, იმუნოგენურობა, უკუჩვენებები.

პაპილომა-ვირუს ასოცირებული დაზიანებების პროფილაქტიკასთან დაკავშირებული სამეცნიერო ლიტერატურის ანალიზის საფუძველზე დადგენილია ვაქცინაციის მაღალი ეფექტურობა. სტატიის ავტორებს მიზანშეწონილად მიიჩნიათ სტრატეგიების შემუშავება ადამიანის პაპილომა-ვირუსის საწინააღმდეგო ვაქცინაციის დონის ამაღლებისათვის, მიმართული ვაქცინაციის მნიშვნელობის შესახებ მოსახლეობის არასაკმარისად ინფორმირებულობის აღმოსაფხვრისკენ, იმუნიზაციის გრაფიკების ოპტიმიზებისაკენ, საგანმანათლებლო პროგრამებისა და სოციალური რეკლამის ჩართვისაკენ.

## СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ЭТИОПАТОГЕНЕЗ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ МИОМ МАТКИ (ОБЗОР)

Солопова А. Г., Солопова А.Е., Макацария А.Д., Москвичева В.С., Капанадзе Д.Л.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
«Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, Россия*

Миомы матки являются самыми распространенными доброкачественными образованиями и представляются весьма актуальной проблемой современной гинекологии. Возникают они, как правило, у женщин репродуктивного возраста, их частота варьирует в пределах 20-40% [2].

Согласно статистическим данным, в США ежегодно из 200 тысяч гистерэктомий треть приходится на миомы. Распространенность миом матки обусловлена расовыми различиями, социальными факторами и подверженностью стрессу [7].

Риск малигнизации миоматозных узлов встречается весьма редко, однако часто приводит к развитию саркомы матки с крайне агрессивным течением и высоким показателем смертности [15].

**Факторы риска.** На данном этапе нельзя с абсолютной уверенностью детерминировать все факторы риска возникновения миом, что обусловлено проблемами понимания патогенеза этого заболевания.

Миомы являются болезнями дезадаптации, часто сочетаются с ожирением, сахарным диабетом, патологиями щитовидной железы, ишемической болезнью сердца и неврозами [2].

Риск развития миом возрастает на 21% при повышении веса на каждые 10 кг. Ожирение способствует интенсификации превращения андрогенов в эстрон и снижает содержание глобулина, связывающего половые гормоны. В результате этих изменений увеличивается содержание биологически доступного эстрогена, что, в свою очередь, объясняет распространенность и рост миом матки [12].

Установлено, что красное мясо способствует увеличению заболеваемости миомой матки, а употребление в пищу зеленых овощей, напротив, выступает протективным фактором. Однако, нельзя однозначно интерпретировать полученные сведения, поскольку в ходе исследований не измерялось потребление калорий и жиров. По сей день не изучена также роль витаминов, пищевых волокон или фитоэстрогена [31].

Среди женщин, ведущих активный образ жизни, показатель распространенности миом матки ниже на 40%, чем среди менее спортивных, причиной чего, очевидно, является более медленное превращение андрогенов в эстрогены, обусловленное снижением массы тела, или же выполнение физических упражнений оказывает положительное влияние на организм в целом и, в частности, на женскую репродуктивную систему [15].

Все миомы, в том числе и миомы матки, являются гормонозависимыми опухолями. Это обуславлива-

ет «хороший ответ» организма на терапию антагонистами гонадотропина и модуляторов рецепторов прогестерона. Нарушения в эндокринной системе, своеобразные «поломки» нормального метаболизма гормонов могут являться стартовыми звеньями развития миом матки [33].

К достоверным факторам относится наследственная предрасположенность. Наличие миом в первой линии родства повышает риск возникновения миом матки в 2,5 раза [7].

Имеются данные, свидетельствующие о том, что наличие беременности и родов в анамнезе служит сдерживающим фактором [2].

Сопутствующие заболевания. Часто миомы матки являются одной из причин развития железодефицитной анемии. Длительно текущая анемия у молодых девушек и женщин без видимых на то причин позволяет заподозрить наличие миом, которые в некоторых случаях сочетаются с другими патологиями, такими как эндометриоз [15].

### Этиология и патогенез

**Биохимия патогенеза.** Значимую роль в развитии миомы матки играют половые гормоны: эстрогены влияют на рост лейомиомы за счет действия цитокинов, фактора роста и факторов апоптоза. Некоторые исследователи предполагают, что эстрогены поддерживают уровень рецепторов прогестерона, и таким образом опосредованно воздействуют на рост лейомиомы [22].

Известно, что рост фибром тесно связан с эстрогеном и его рецепторами. Установлено, что уровень экспрессии форм эстрогена ER- $\alpha$  и ER- $\beta$  выше в тканях лейомиомы в сравнении со здоровым миометрием. Эстрогены могут оказывать на миоматозные узлы стимулирующий эффект, опосредуемый цитокинами и факторами роста. За счет активации метаболического пути киназ, эстрогены подавляют экспрессию эпидермального фактора роста (EGF), однако увеличивают активность тромбоцитарного фактора роста (PDGF), который, в свою очередь, подавляет действие актина, отвечающего за дифференцировку тканей, способствуя развитию опухолевого процесса [27].

В большинстве гистологических образцов миоматозных узлов наблюдается значительный рост клеток миомы при эстрогеновой стимуляции. Доказано, что эстрогены способствуют пролиферации миом за счет стимуляции АТФ-зависимых калиевых каналов [16].

Прогестерон играет ключевую роль в гомеостазе миометрия и возникновении опухоли. Экспрессия рецепто-

ров прогестерона PR-a и PR-b значительно повышена в фиброме в сравнении со здоровыми тканями [29].

Факторы роста, такие как фактор роста эндотелия сосудов, эпидермальный фактор роста (EGF), гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста, фактор роста тромбоцитов, инсулиноподобный фактор роста (IGF), трансформирующие факторы роста  $\alpha$  и  $\beta$  (TGF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ ), кислая и основная формы фактора роста фибробластов (aFGF и bFGF) и соответствующие им рецепторы играют значимую роль в росте лейомиомы. bFGF и VEGF влияют на развитие ангиогенеза в лейомиоме. Упомянутые выше факторы роста индуцируют синтез ДНК в клетках лейомиомы путем активации киназных путей, при этом повышается скорость пролиферации клеток миометрия и лейомиомы [27]. Клеточный фактор роста TGF- $\beta$  также может активировать киназные пути (MAPK/ERK/Smad), модулируя экспрессию различных типов генов, влияющих на рост лейомиомы и ее регрессию. Аналогично, IGF может увеличивать клеточную пролиферацию фибромы матки посредством активации пути MAPK, играя, таким образом, решающую роль в росте клеток опухоли [11,16].

Помимо гормонов и факторов роста, свой вклад в патофизиологический механизм миом вносят цитокины и хемокины. С наибольшей долей вероятности можно судить о влиянии фактора некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкинов IL-1 и IL-6, а также эритропоэтина [33].

Одним из регуляторов выделения цитокинов является система комплемента, являющаяся протеолитической системой плазмы крови и одной из значимых частей врожденного иммунитета [28]. Белки комплемента регулируют не только фагоцитоз, но и апоптоз как здоровых, так и опухолевых клеток. Ишемия, возможно, является одним из ключевых звеньев патогенеза миом матки, причем связано это именно с системой белков комплемента. Благодаря активации трех путей комплемента (классический, альтернативный и маннозно-лектиновый) образуется мембраноатакующий комплекс (МАК), связанный с активными белками C5 и C9. МАК отвечает за апоптоз нежизнеспособной ишемизированной ткани, а активные белки C3 и C5, имеющие рецепторы на поверхности макрофагов и нейтрофилов, способствуют выделению из них вышеупомянутых цитокинов (TGF- $\beta$ , фактор некроза опухоли- $\alpha$ , IL-1, IL-8), роль которых в опухолевом росте была описана выше [14,19,23].

*Патогенез и генетика.* Недавние исследования выявили повторяющиеся и взаимоисключающие мутации в ограниченном количестве ключевых генов, указывающие на существование молекулярно-генетически обоснованных различий подтипов лейомиом. Принято считать, что инициирующим фактором в возникновении миомы матки являются хромосомные aberrации и соматические мутации. Например, Mäkinen N. и соавт. [24] утверждают, что мутации в гене MED12 часто наблюдаются в обычных лейомиомах (66,6%) и в лейомиосаркомах с агрессивным течением. Эти же авторы предпола-

гают, что ген MED12 специфичен для гладкомышечных опухолей, так как подобные мутации не выявлены в случаях внепочечных сарком.

HMGA2 и MED12 – два наиболее распространенных драйвера генов, которые по некоторым данным связаны с 80-90% всех лейомиом. В научной медицинской периодике сообщалось, что и HMGA2, и MED12 имеют подмутации, происходящие одновременно в обоих драйверах [24].

Миомы могут быть связаны с повторяющимися делециями и точечными мутациями в локусах 7q22, 22q и 1p. Данные делеции сосуществуют с другими генетическими изменениями, которые, очевидно, могут быть вторичными по значимости событиями, но часто встречаются исключительно в популяции опухолевых клеток [29].

В некоторых современных исследованиях содержится информация о том, что у трансгенных мышей с гиперэкспрессией HMGA2 произошло развитие аденомы гипофиза, секретирующего пролактин, а также наблюдалась высокая экспрессия PRL в лейомиомах подтипа HMGA2. Показано [15], что выделение пролактина регулируется пролактин-высвобождающим пептидным рецептором (PrRPR).

Усиление влияния пролактиновых рецепторов (PRLHR) стимулирует пролиферацию культивируемых первичных клеток лейомиомы человека, а у мышей с избыточной экспрессией PRLHR развивается гиперплазия миометрия со значительным выделением внеклеточного матрикса [28].

#### **Клиническая картина и осложнения**

Из вышеизложенного следует, что миомы представляют собой болезнь дезадаптации, возникающую часто на фоне отягощенного коморбидного фона и гинекологического анамнеза. Заболевание протекает бессимптомно или же первые симптомы могут быть незначительными, и женщины не передают им большого значения. Средний период обращения за медицинской помощью от первых симптомов составляет от одного года до трех лет. Считается, что миомы могут быть диагностированы лишь с наступлением менструального цикла, что определяется гормональным фоном и его взаимосвязью с патогенезом болезни. Однако, встречаются единичные случаи диагностирования миом до наступления менархе при условии отягощенной наследственности у близких родственников пациентки. Современной проблемой является смещение возрастных рамок в сторону более молодого возраста наступления болезни. Так, за последние 40 лет частота диагностирования миом у женщин до 30 лет увеличилась с 2 до 12,5% [2,7].

Наиболее распространенными симптомами являются: боль, маточные кровотечения, нарушение функции смежных органов, бесплодие, гиперплазия эндометрия, мелкокистозные изменения яичников, дисгормональные заболевания молочных желез.

Расположение опухоли и направление роста игра-

ют определяющую роль в клинической картине. Выделяют субсерозное, интерстициальное, субмукозное расположение узлов, а также шеечное, перешеечное и корпоральное по отношению к оси матки [2,37]. К бессимптомным миомам относятся субсерозные корпоральные на широком основании, так как при них не меняется функциональная активность матки. Симптоматика проявляется при атипичной локализации узлов, имеющих большой размер [34].

Причиной нарушения мочеиспускания могут быть субсерозные миомы или интерстициальные с анцервикальной локализацией, за счет сдавления и нарушения иннервации мочевого пузыря. При парацервикальной (положение узла на боковых отделах шейки матки) локализации возможно сдавление мочеточника, что ведет к трудностям его катетеризации перед оперативным вмешательством. Субперитонеальная миома может отслаивать брюшину от задней поверхности передней брюшной стенки и влиять на работу мочевого пузыря, что встречается достаточно редко. Однако восстановить функцию затронутого органа можно лишь оперативным путем с длительным периодом реабилитации [32].

При ретроцервикальной локализации узла (узел, расположенный на задней поверхности шейки матки, прорастает в сторону прямой кишки, вызывая ее сдавление) возникает нарушение нормального опорожнения. Возможно и подбрюшинное расположение ретроперитонеального узла над областью внутреннего зева, который отслаивает брюшину от позвоночника и сдавливает мочеточник. Такое расположение может привести к развитию гидроуретера, гидронефроза и пиелонефрита. Узлы могут сдавливать крестцовые нервы и вызывать хроническую боль, аналогичной причиной болей могут стать и параметральные миомы. Одним из тяжелых осложнений миом подобного рода могут быть тромбозы вен малого таза и нижних конечностей как следствие нарушения кровоснабжения и венозного застоя [2,32].

Межмышечные миомы уменьшают сократительную способность миометрия, увеличивают и деформируют площадь и полость матки. Утолщается срединный слой миометрия, нарушается его микроциркуляция, что приводит к маточным кровотечениям. Обильные менструальные кровотечения (ОМК) служат одной из основных причин обращения к гинекологу, являясь прямым показанием к оперативному лечению. ОМК могут вызывать венозный застой при опущении матки, гиперплазию эндометрия ввиду «стимуляции потребления», образование сосудов эндотелиального типа в процессе формирования миомы, вторичные изменения гемостаза и приводить к субмукозной локализации миомы. Часто ОМК наблюдается у быстрорастущих миом.

Для субмукозного узла характерны проявления в виде вторичной дисменореи и болевого синдрома [2,26].

Причиной острого живота может являться перекрут ножки субсерозного узла. Характерна резкая боль внизу живота с иррадиацией в поясницу и сим-

птомами раздражения брюшины. Это состояние необходимо уметь отличать от следующих патологий: острый аднексит, перекрут кисты яичника, острый аппендицит и внематочная беременность [2].

Достаточно редким, но тяжелым осложнением является разрыв кровеносного сосуда миомы с кровоизлиянием в брюшную полость. Причиной тому могут быть травмы, подъем тяжестей, беременность. Для данного осложнения характерна внезапная резкая боль кинжального характера, признаками внутрибрюшного кровотечения и развитием шока [2,7].

У пациенток с миомами матки, находящихся в пременопаузе, наблюдается наступление менопаузы на 1-3 года позднее в сравнении со здоровыми пациентками. В данный период более активным из эстрогенов становится эстрон, который на молекулярном уровне способен усиливать экспрессию онкогенов и факторов роста, создавая риск малигнизации уже имеющихся миом.

Миомы, не регрессирующие в первые 1-2 года менопаузы, должны быть удалены оперативно, т.к. повышают риск развития рака эндометрия, яичников и саркомы матки. Классическая картина нерегрессирующей миомы включает следующие симптомы: кровянистые выделения из матки после одного года стойкой менопаузы или ее позднее наступление, отсутствие регрессии миоматозных узлов и возрастной инволюции матки в первые два года менопаузы, патология эндометрия, увеличение толщины М-эхо до 5-8 мм и более в сочетании с миомой матки, хроническая анемия, необусловленная другими причинами, патология яичников. Высокий риск злокачественных процессов отмечается у женщин, вступающих в менопаузу с миомами больших размеров субмукозной локализации или с центрипетальным ростом, рецидивами гиперплазии эндометрия (атипическая), в сочетании миом и аденомиоза II-III степени, при наличии нерегрессирующей миомы, протекающей на фоне длительной возрастной инволюции матки [2]. Последний вариант течения болезни имеет весьма высокий риск малигнизации, так как пролиферация протекает гормонально независимо. Миомы подобного рода относятся к предсаркомным опухолям [32].

Актуальной остается тема миом и беременности, роли миом в развитии бесплодия и прерывании беременности. Клиническое значение имеет расположение узлов, их количество и размеры, что определяет течение беременности и проблему ее наступления. Миомы больших размеров, сочетающиеся с субсерозной локализацией, могут приводить к развитию бесплодия. Наличие у беременных женщин миом средних и больших размеров (от 3-5 см и более) приводит к патологическому течению беременности и повышает риск ее прерывания на любом сроке. Крайне важен контроль за быстрорастущими миомами, которые за период беременности могут увеличиваться в разы, даже при изначально небольших размерах. Однако, проводить миомэктомию не рекомендуется ввиду воз-



можного развития спаечного процесса у женщин, желающих забеременеть [2,26].

### Диагностика

#### Неинвазивные методы диагностики

Метод ультразвукового исследования (УЗИ) позволяет обнаружить миоматозные узлы и определить их особенности, в том числе уровень кровоснабжения. Трансвагинальное исследование обладает большей чувствительностью при диагностике малых миоматозных узлов в сравнении с трансабдоминальным способом. Типичная картина миомы матки на УЗИ следующая: хорошо очерченные солидные массы, обычно гиперэхогенные. Допплерография позволяет оценить степень васкуляризации опухоли, таким образом миомы, подвергшиеся некрозу, характеризуются отсутствием кровотока [7].

Значимой задачей является дифференциальная диагностика миом и лейомиосарком. Лейомиосаркомы – достаточно редкие опухоли, встречаются с частотой 1:1000 миом. В настоящее время остается открытым вопрос о диагностике данной патологии с использованием УЗИ [8,37].

В научной медицинской литературе описаны следующие критерии для выявления злокачественного процесса, применение которых актуально для лейомиосарком: 1) гиперэхогенные тяжи, 2) размытость внутренних структур, 3) дольчатость, 4) изогипоэхогенная структура в сравнении со здоровым миометрием.

Диагностические критерии миом при диагностировании их с помощью УЗИ следующие: 1) слоистая структура, 2) дистальные акустические тени.

Признаки лейомиосаркомы редко сочетаются друг с другом, и, напротив, у миом акустические тени и слоистая структура встречаются одновременно [5,9]. Для окончательной постановки диагноза применение только УЗИ является недостаточным.

Критерии, позволяющие заподозрить злокачественную опухоль: 1) неровные границы опухоли, 2) анэхогенные участки, образовавшиеся из-за некроза.

Существует еще один вид миом с неопределенным злокачественным потенциалом – STUMP. Данная нозология впервые описана Кемпсоном в 1937 г. Опухоль относится к STUMP, в случае, когда не доказана ее злокачественная природа и имеются не менее трех стэнфордских критериев гистологического диагноза лейомиосаркомы. С частотой 25% встречается сосудистая инвазия опухоли в соседние ткани. К сожалению, нет УЗ-признаков, характерных для STUMP, что приводит к большим трудностям в диагностике и правильной идентификации. Для такого рода опухолей характерно сочетание с простыми миомами [6,10,13,17].

Ехасоустос С. и соавт. [18] сообщают, что в своем исследовании 8 пациенток с лейомиосаркомой и 249 пациенток с доброкачественными опухолями выявили патогномичные для лейомиосаркомы особенности: большой диаметр (более 8 см), неоднородную эхострук-

туру, характеризующуюся дегенеративными кистозными изменениями и обильной центральной васкуляризацией. В литературе встречаются схожие критерии злокачественных опухолей на УЗИ. Это позволяет сделать вывод, что с дальнейшим развитием технологий ультразвукового исследования предоставится возможность с высокой долей вероятности исключить или подтвердить диагноз лейомиосарком [21].

*МРТ.* По мнению мирового врачебного сообщества, вторым этапом в идентификации лейомиосарком после УЗИ является МРТ. Метод МРТ является более информативным в сравнении с УЗИ так как дает полную картину о расположении, размерах и контурах опухоли. МРТ широко используется в предоперационном обследовании женщин для эмболизации маточной артерии и термоабляции миом [17].

На МРТ фибромы матки визуализируются как округлые образования с хорошо отграниченными контурами. Они могут располагаться в миометрии (интрамурально), выступая из эндометрия (подслизистые) или искажая внешний контур матки (субсерозно). Миомы преимущественно состоят из соединительной ткани, чередующейся с гладкомышечными клетками, что дает гипointенсивный сигнал на T2-взвешенном изображении и изоинтенсивный сигнал на T1-взвешенной картине. Фибромы, имеющие в своем составе преобладание гладкомышечной ткани над соединительной, дают более высокую интенсивность сигнала на T2-взвешенных МРТ изображениях [8].

В отличие от миом, лейомиосаркомы могут иметь нечеткие контуры, кровоизлияния внутри опухоли, гетерогенность сигнала на T2-взвешенных изображениях. Усиление интенсивности на T2-взвешенных изображениях или небольшие кровоизлияния на T1-взвешенном режиме, кистозные изменения, нечеткие контуры могут указывать на злокачественность процесса, однако это не дает абсолютного подтверждения диагноза. При гистологическом исследовании образцов были несовпадения предполагаемого диагноза лейомиом и лейомиосарком [17].

По данным Namimoto и его соавт. [30], которые провели сравнительный анализ лейомиом и сарком, коэффициент диффузии был значительно ниже в сочетании с усилением T2-взвешенного сигнала у злокачественных опухолей в сравнении с доброкачественными. Некоторые исследователи также указывают на пользу применения диффузионно-взвешенной МРТ для дифференциальной диагностики [8].

Многолетний опыт применения инструментальных методов исследования для дифференциальной диагностики миом и лейомиосарком показал, что использовать КТ нецелесообразно ввиду низкой эффективности, т.к., в отличие от МРТ, не позволяет визуализировать истинную картину заболевания [17].

На сегодняшний день нет совершенного однозначного типа диагностики, который позволяет исключить или опровергнуть лейомиосаркому без применения гистоло-

гического исследования. Особые надежды возлагаются на развитие новых способов визуализации УЗИ и применение диффузионно-взвешенной МРТ [17].

#### *Инвазивные методы диагностики*

Несмотря на значительные достижения в области лучевой диагностики остаются спорные моменты в дифференцировке простых миом от лейомиосарком: не разрешен вопрос разграничения простых и пролиферирующих миом, равно как и вопрос различия миом с разным злокачественным потенциалом. Максимально достоверный результат и правильно поставленный диагноз может обеспечить лишь биопсия.

Для простых миом характерен медленный рост и невыраженная клиническая симптоматика. Морфологическими критериями простой миомы являются: узлы, состоящие из белесоватой волокнистой ткани с четкими границами, плотной консистенции, локализующиеся ближе к серозной оболочке. Миоциты в этих зонах миометрия имеют повышенную продукцию экстрацеллюлярного матрикса. Они отделены от соседних участков псевдокапсулой, состоящей из уплотненного слоя миоцитов, фибробластов, тесно переплетенных коллагеновыми волокнами. Таким образом, простые миомы характеризуются отделенными пучками из гладкомышечных клеток с преобладанием стромального компонента (гладкомышечные клетки). С течением времени в узлах происходит увеличение доли стромы, которая представляет собой соединительную ткань с большим количеством коллагеновых волокон, а миоциты уменьшаются в размерах, их ядра сморщиваются. Для простых миом нехарактерно разрастание сосудистой сети, она выражена слабо, преобладают сосуды синусоидного типа, нет пролиферации миоцитов вокруг сосудов, характерен склероз и гиалиноз сосудов и их стенки [4].

Пролиферирующая миома имеет свойства, позволяющие отличать ее от простых миом. Множественные быстрорастущие узлы часто выявляются у молодых женщин до 30 лет. Они располагаются в межмышечном слое и ближе к полости матки, имея центрипетальный рост и могут локализоваться в подслизистом слое. Такие узлы, как правило, растут в зонах миометрия, где находятся миоциты с высокой сократительной активностью, склонные к быстрой гиперплазии, гипертрофии, пролиферации и с невысокой синтетической активностью. При макроскопии они имеют четкие границы с прилежащим миометрием, но с более мягкой консистенцией. При разрезе имеется выраженная сосудистая сеть с кровоизлияниями. При микроскопии можно наблюдать очаги пролиферации миоцитов опухоли, находящиеся в периваскулярном пространстве вокруг сосудов, которые, в свою очередь, имеют синусоидальное строение и могут располагаться в периферических отделах опухоли - в зонах роста. Возможны и варианты, когда вся миома состоит из пролиферирующих миоцитов с синусоидальными сосудами. Их мышечные стенки крупные, содержат гиперхромные ядра округлой

формы. Клетки располагаются в виде тяжей и пучков. Стромальный компонент состоит из невыраженной рыхлой соединительной ткани.

Гистологические варианты пролиферирующих миом более разнообразны, чем простых. Помимо клеточного компонента могут встречаться и группы эпителиоидных миоцитов причудливой формы. Миоциты, находящиеся вне узлов, имеют признаки гипертрофии, увеличены в размере, наблюдается большое содержание хроматина. Встречается расширение капиллярной сети с полнокровием, а также множественные участки «активного роста». Миомы с подобной гистологической картиной активные и быстрорастущие. В отличие от простых миом, их пролиферативная активность высокая, нередко сопровождается пролиферативными (гиперпластическими) процессами в эндометрии [2,3,34].

Клинически важно вовремя дифференцировать пролиферирующую миому от лейомиосаркомы. Последние считаются достаточно агрессивными опухолями, с высокой способностью к метастазированию. Они диссеминируют гематогенно в легкие и образуют опухолевые массы в малом тазу, провоцируя расстройства со стороны мочевыделительной и пищеварительной систем. Лейомиосаркома – это опухоль, состоящая из клеток гладкомышечной дифференцировки. Обычно она представлена интрамуральными образованиями, не связанными с лейомиомами, в диаметре 8 см, мягкой консистенции, с нечеткими границами. Ее поверхность серо-желтая или розовая с участками кровоизлияния и некроза. Клеточный компонент этой опухоли обычно представлен веретеновидными клетками с обильной эозинофильной цитоплазмой, веретеновидными ядрами с закругленными концами, гиперхромные с большим содержанием хроматина и выраженными ядрышками. Критериями для постановки диагноза считаются: 1) коагуляционный некроз опухолевых клеток; 2) количество митозов  $\geq 10$ ; 3) диффузная умеренная или выраженная клеточная атипия.

При наличии митозов менее 10 характерно медленное развитие опухоли и ее редкие рецидивы, в среднем, 2-3%. Такие опухоли носят название «атипическая лейомиома с низким риском развития рецидива». Только в 25% случаев в опухоли выявляется сосудистая инвазия. Редко в типичных лейомиосаркомах встречаются гигантские клетки, напоминающие остеокласты и ксантомные клетки. Если пациентка принимает льюпролид, возможны ложноположительные результаты биопсии, связанные с образованием коагуляционного некроза в опухоли. В особенности это касается молодых женщин репродуктивного возраста до 30 лет.

Выделяют два основных вида лейомиосарком: эпителиоидную и миксоидную. Эпителиоидная лейомиосаркома сочетает в себе «эпителиоидный» фенотип с классическими чертами злокачественной опухоли (большое количество клеток, цитологическая атипия, некроз опухолевых клеток и выраженная митотическая активность). Миксоидный тип лейомиосарком представляет

собой крупную студенистую опухоль, которая при макроскопии выглядит ограниченной. Гладкомышечные клетки разделены миксоидным материалом, малая клеточность служит причиной небольшого числа митозов, обнаруживаемых в 10 полях зрения. Большинство таких лейомиосарком характеризуется клеточным полиморфизмом с увеличенными ядрами, часто прорастающими в миометрий и редко в кровеносные сосуды [1-3].

**Заключение.** Резюмируя вышеизложенное, следует отметить, что за последние десятилетия взгляд на этиопатогенез опухолей изменился кардинальным образом, основная роль в нем отводится прогестерону и его рецепторам. Активно проводятся исследования, изучающие влияние образа жизни, характера питания и наличия ожирения как возможных факторов риска развития миом. Большие надежды возлагаются на генетику, а именно открытие новых мутаций в генах HMGA2 и MED12, которые встречаются в клетках миом и в биоптате с лейомиосаркомами. Выявлено, что значительное количество факторов роста оказывает колоссальное влияние на ангиогенез в миоме и повышает пролиферацию клеток эндометрия; занимая свою нишу в патогенезе, они могут стать новыми биомаркерами. Однако, нельзя забывать, что триггером всех патологических механизмов заболевания остается стресс, а значит вопрос о полноценном лечении и реабилитации пациентки с миомами матки должен быть персонифицирован в комплексе с психотерапией. Особое внимание стоит уделить вопросу быстропролиферирующих миом, а именно их дифференциальной диагностики с саркомами матки у женщин репродуктивного возраста. По сей день неинвазивного метода диагностики, который позволил бы исключить или подтвердить лейомиосарком, не разработано, для данных целей всегда требуется проведение гистологического исследования. Особые надежды возлагаются на развитие новых способов визуализации УЗИ и применение диффузно-взвешенной МРТ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Климашевский В.Ф., Туркевич Е.А. Морфологическая классификация сарком тела матки. Практическая онкология 2008; 9: 3.
2. Клинические рекомендации (клинический протокол) Миома матки: диагностики, лечение и реабилитация. РОАГ: 2015.
3. Сидорова И.С., Агеев М.Б. Клинико-морфологические особенности простой и пролиферирующей миомы матки. Российский вестник акушера-гинеколога 2013;6.
4. Сидорова И.С., Унанян А.Л., Коган Е.А., Гуриев Т.Д. Миома матки у больных молодого возраста: клинико-патогенетические особенности. Акуш. гин. репрод. 2010; 4: 1.
5. Чекалова М.А., Мнацаканян Л.К., Кузнецов В.В. и соавт. Возможности эхографии при диагностике лейомиосаркомы тела матки. Сибирский онкологический журнал 2009; 3: 33.
6. Чекалова М.А., Мнацаканян Л.К., Кузнецов В.В. и соавт. Ультразвуковая дифференциальная диагностика лейомиосарком и миом матки. 2009; 1
7. Aamir T.K., Shehmar M., Gupta J.K. Uterine fibroids: current perspectives. International Journal of Women's Health, 2014;(6) 95–114.
8. Antonia C.T., Alessia D.L., Matteo B., et all. Imaging techniques for evaluation of uterine myomas. B. Pract. Resea. Clin. Obstet. Gynaecol., 2016 (34) 37-53.
9. Barnard E.P., Elmagied A.M, Vaughan L.E, et all. Periprocedural Outcomes Comparing Fibroid Embolization and Focused Ultrasound: a Randomized Controlled Trial and Comprehensive Cohort Analysis. Am. J. Obstet. and Gynecol., 2016;(16)46488-4.
10. Bosch T.V., Dueholm M., Francesco P.G.L., et all. Terms and defenitions for describing myometrial pathology using ultrasonography. Ultrasound Obstet. Gynecol. 2015 Sep; 46(3):284-98
11. Ciavattini A., Giuseppe J.Di., Stortoni P., et all. Uterine Fibroids: Pathogenesis and Interactions with Endometrium and Endomyometrial Junction. Obstet Gynecol Int. 2013 Sep; 2013:173184.
12. Ciebiera, M., Włodarczyk, M., Słabuszewska-Józwiak, A., Nowicka, G., & Jakiel, G. (2016). Influence of vitamin D and transforming growth factor β3 serum concentrations, obesity, and family history on the risk for uterine fibroids. Fertility and Sterility.
13. Cheung V.Y. Sonographically guided high-intensity focused ultrasound for the management of uterine fibroids. J. Ultrasound. Med., 2013;32(8):1353-1358.
14. Danobeitia J.S., Djamali A., Fernandez L.A. The role of complement in the pathogenesis of renal ischemia-reperfusion injury and fibrosis. Fibrogenesis Tissue Repair. 2014 Nov 1;7:16.
15. Denny L., Quinn M. FIGO Cancer Report 2015. Int J Gynaecol Obstet. 2015 Oct; 131 Suppl. 2:S 75.
16. Donnez J., Dolmans M.-M. Uterine fibroid management: from the present to the future. Hum Reprod Update. 2016 Nov;22(6):665-686.
17. Dueholm M., Hjorth I. Structured imaging technique in the gynecologic office for diagnosis of abnormal uterine bleeding. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017 Apr; 40:23-43
18. Exacoustos C., Brienza L., Di Giovanni A. et al. Adenomyosis: three-dimensional sonographic findings of the junctional zone and correlation with histology // Ultrasound Obstet. Gynecol. 2011. Vol. 37. 4. P. 471–479.
19. Gorsucha W.B., Chrysanthou E., Schwaebleb W.J., et all. The complement system in ischemia-reperfusion injuries. Immun. 2012, (217) :1026–1033.
20. John M. N., Minnie M., Candace Y., et all. Transforming Growth Factor b3 Regulates the Versican Variants in the Extracellular Matrix-Rich Uterine Leiomyomas. Reprod. Sci. 2009 Dec;16(12):1153-64.
21. Kara G.-U., Karen McLean, Andrew P. S., et all. Diagnostic Accuracy of Ultrasound, Contrast-enhanced CT, and Conventional MRI for Differentiating Leiomyoma From Leiomyosarcoma. Acad. Radiol. 2016 Oct;23(10):1290-7
22. Kim J., Sefton E.C. The role of progesterone signaling in the pathogenesis of uterine leiomyoma. Mol Cell Endocrinol. 2012 Jul 25;358(2):223-31.
23. Maciej M., Markiewski, John D. Lambris. The Role of Complement in Inflammatory Diseases From Behind the Scenes into the Spotlight. Am J Pathol. 2007 Sep;171(3):715-27.
24. Mäkinen N., Mehine M., Tolvanen J. MED12, the mediator complex subunit 12 gene, is mutated at high frequency in uterine leiomyomas. Science. 2011 Oct 14;334(6053):252-5.
25. Markowski D.N. MED12 mutations in uterine fibroids: Their relationship to cytogenetic subgroups. Int J Cancer. 2012 Oct 1;131(7):1528-36.
26. Mary S.D., Cherie H., Fidel A.V. Benign Gynecologic. Lesions Vulva, Vagina, Cervix, Uterus, Oviduct, Ovary, Ultrasound Imaging of Pelvic Structures. Part III. GENERAL GYNECOLOGY.



- Downloaded from ClinicalKey.com at Moskovskaya Meditsinskaya Akademiya Im I M Sechenova January 16, 2017.
27. Mehinea M., Kaasinen E., Heinonen H.-R., et al. Integrated data analysis reveals uterine leiomyoma subtypes with distinct driver pathways and biomarkers. PNAS Early Edition. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016; 113(5):1315-20.
28. Mehine M., Kaasinen E., Mäkinen N., et al. Characterization of Uterine Leiomyomas by Whole-Genome Sequencing. N Engl J Med. 2013 Jul 4;369(1):43-53.
29. Moroni R.M, Martins W.P, Ferriani R.A, et al. Add-back therapy with GnRH analogues for uterine fibroids. Cochrane Database Syst Rev. 2015 Mar 20;(3):CD010854.
30. Namimoto, T., Yamashita, Y., Awai, K. et al. Eur Radiol. (2009) 19:27-56.
31. Shen, Y., Wu, Y., Lu, Q., and Ren, M. Vegetarian diet and reduced uterine fibroids risk: A case-control study in Nanjing, China. J. Obstet. Gynaecol. Res., 2016; 42: 87-94.
32. Timothy R., Roger A. L. Abnormal Uterine Bleeding Etiology and Management of Acute and Chronic Excessive Bleeding. 26 Abnormal Uterine Bleeding. Downloaded from ClinicalKey.com at Moskovskaya Meditsinskaya Akademiya Im I M Sechenova January 16, 2017
33. Tiffany A. K., Qiwei Y., Lindsey S., et al. Endocrine-disrupting chemicals and uterine fibroids. Fertil Steril. 2016 Sep 15;106(4):967-77.
34. Yorita K., Tanaka Y., Hirano K., et al. A subserosal, pedunculated, multilocular uterine leiomyoma with ovarian tumor-like morphology and histological architecture of adenomatoid tumors: a case report and review of the literature. J. Med Case Rep. 2016 Dec 20;10(1):352.
35. Yulia L., Harini V., Joshua C., et al. Differentiation of Uterine Leiomyosarcoma from Atypical Leiomyoma: Diagnostic Accuracy of Qualitative MR Imaging Features and Feasibility of Texture Analysis. Eur. Radiol. 2016 Dec 5.
36. Zhang Q., Ubago J., Li L., et al. Molecular Analyses of 6 Different Types of Uterine Smooth Muscle Tumors: Emphasis in Atypical Leiomyoma. Cancer. 2014 Oct 15;120(20):3165-77.
37. Zhang C., Miao Q., Liu X. Intravenous leiomyomatosis with intracardiac extension. Ann Thorac Surg. 2017 Feb;103(2):e145-e147.

## SUMMARY

### MODERN VIEW ON ETIOPATHOGENESIS AND NEW OPPORTUNITIES FOR DIAGNOSIS OF UTERINE FIBROIDS

**Solopova A.G., Solopova A.E., Makatsariya A., Moskvichetva V., Kapnadze D.**

*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russia*

Uterine fibroids remain a burning issue for modern gynecology and cause suffering to women, significantly worsening their quality of life. This article includes the latest information about etiology, risk factors, pathobiochemical, genetic and immunological features of pathogenesis, clinical findings, early detection of fibroids and sarcoma differential diagnostic criteria by ultrasonography and MRI. Foreign publications form the basis of the given article, as well as domestic ones.

**Keywords:** fibroids, uterine sarcomas, MRI, ultrasound, complement.

## РЕЗЮМЕ

### СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ЭТИОПАТОГЕНЕЗ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ МИОМ МАТКИ (ОБЗОР)

**Солопова А.Г., Солопова А.Е., Макацария А.Д., Москвичева В.С., Капанадзе Д.Л.**

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, Россия*

Миомы матки по сей день остаются проблемой в современной гинекологии и приносят страдания женщинам, ухудшая качество их жизни. На основании изучения ретроспективных и текущих литературных источников, посвященных миомам матки, представлен анализ вопросов этиологии, биохимии патогенеза, генетики, факторов риска, клинической картины, раннего выявления данной патологии и дифференциальной диагностики между миомами и саркомами матки.

За последние десятилетия взгляд на этиопатогенез опухолей изменился кардинальным образом, основная роль в нем отводится прогестерону и его рецепторам. Активно проводятся исследования, изучающие влияние образа жизни, характера питания и наличия ожирения как возможных факторов риска развития миом.

Выявлено, что значительное количество факторов роста оказывает колоссальное влияние на ангиогенез в миоме, повышает скорость пролиферации клеток эндометрия и могут стать биомаркерами развития миом. Авторы считают, что особое внимание следует уделить вопросу быстропролиферирующих миом, а именно их дифференциальной диагностики с саркомами матки у женщин репродуктивного возраста.

## რეზიუმე

თანამედროვე შეხედულება საშვილოსნოს მიომების ეტიოპათოგენეზზე და დიაგნოსტიკის ახალი შესაძლებლობები (მიმოხილვა)

ა.გ. სოლოპოვა, ა.ე. სოლოპოვა, ა. მაქაცარია, ვ. მოსკვიჩევა, დ. კაპანაძე

მოსკოვის ი. სეჩენოვის სახ. სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, რუსეთი

საშვილოსნოს მიომები მნიშვნელოვნად აუარესებს ქალების ცხოვრების ხარისხს, სადღეისოდაც წარმოადგენს თანამედროვე გინეკოლოგიის დიდ პრობლემას.



სტატიაში აღწერილია საზღვარგარეთის და რუსეთის მეცნიერების როგორც რეტროსპექტიული, ასევე მიმდინარე მონაცემები საშიფლოსნოს მიომების პათოლოგიის ეტიოლოგიის, პათოგენეზის, გენეტიკის რისკ-ფაქტორების შესახებ. განხილულია ასევე მიომების დროულად გამოვლინებისა და დიფერენციალური დიაგნოსტიკის საკითხები.

უკანასკნელ წლებში რადიკალურად შეიცვალა შეხედულება სიმსივნეთა ეტიოპათოგენეზის შესახებ. სადღეისოდ ძირითადი როლი მასში მიეკუთვნება პროგესტერონს და მის რეცეპტორებს.

აქტიურად მიმდინარეობს კვლევები ცხოვრების წესის, კვების რეჟიმის, ჭარბი წონის და სხვა მიომის გამომწვევი რისკ-ფაქტორების შესახებ. გამოვლინდა, რომ ზრდის ფაქტორების მნიშვნელოვანი როდენობა დიდ გავლენას ახდენს ანგიოგენეზზე მიომებში, აჩქარებს რა ენდომეტრიუმის უჯრედების პროლიფერაციას.

ავტორებს მიაჩნიათ, რომ განსაკუთრებული ყურადღება უნდა მიექცეს სწრაფადპროლიფერებად მიომებს, კერძოდ, კი მათ დიფერენციაციას საშიფლოსნოს სარკომისაგან რეპროდუქციული ასაკის ქალებში.

## ФОРМИРОВАНИЕ АУТОИММУННОГО ПОРАЖЕНИЯ ЯИЧНИКОВ В ПУБЕРТАТНОМ ПЕРИОДЕ

Татарчук Т.Ф., Захаренко Н.Ф., Бачинская И.В., Косей Н.В.

*«Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», отдел эндокринной гинекологии, Киев;  
Национальная детская специализированная больница «Охматдет»,  
отделение детской и подростковой гинекологии, Киев, Украина*

Диагностика аутоиммунного поражения яичников является одним из дискуссионных вопросов современной гинекологии. Подтверждением аутоиммунного поражения яичников может служить выявление антиовариальных антител (АОАТ) в сыворотке крови [11].

Vallotton M. и Forbes A. [18] первыми определили АОАТ в сыворотке крови женщин с преждевременной недостаточностью яичников (ПНЯ).

После этого сообщения еще несколько исследований представили свои выводы о вовлечении яичников в аутоиммунный процесс [4,9].

По данным J. Luborsky и соавт. [12], наличие АОАТ ассоциируется с повышенным риском яичниковой недостаточности независимо от уровня половых гормонов. Наличие АОАТ может быть предиктором нарушения функции яичников еще до начала клинических проявлений ПНЯ [9,11].

Известно, что некоторые аутоиммунные заболевания связаны с возникновением аутоиммунного оофорита [1,7,13]. Аутоиммунный оофорит часто возникает вследствие аутоиммунного полиэндокринного синдрома у больных болезнью Аддисона и аутоиммунным тиреоидитом Хашимото. Другие аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит, миастения гравис, диабет, атрофический гастрит, пернициозная анемия в меньшей степени связаны с возникновением аутоиммунного оофорита [19].

От 10 до 30% женщин с ПНЯ имеют аутоиммунную патологию, наиболее часто – аутоиммунный тиреоидит с гипопункцией щитовидной железы [3,15]. Установлено, что среди женщин, которые страдают аутоиммунным тиреоидитом (АИТ), отмечается повышенный уровень заболе-

ваемости синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), ПНЯ, эндометриозом, бесплодием [5,14]. В исследованиях последних лет [6,8,16] выявлено, что у 24% женщин с ПНЯ выявлены антитела к тиреопероксидазе (АТПО).

АИТ является одним из наиболее распространенных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ) у детей и подростков, а также наиболее частой причиной приобретенного гипотиреоза в детском и подростковом возрасте. АИТ страдает около 18% населения. Ввиду того, что подавляющее большинство больных АИТ представительницы женского пола, начало и пик заболевания совпадают именно с препубертатным и пубертатным периодом, в частности в этот период происходит становление репродуктивной функции девочек, формирование регулярного менструального цикла как залог будущего материнства. Вопрос влияния АИТ на течение пубертатного периода по сей день является весьма актуальным. Известно, что АИТ негативно влияет на становление репродуктивной функции девочек-подростков. Однако вопрос, который из них - изменение уровня гормонов ЩЖ или наличие аутоиммунного компонента, негативно влияет на репродуктивный потенциал, остается дискуссионным. Взаимосвязи возникновения аутоиммунного оофорита на фоне АИТ не исследованы.

Целью исследования явилось определение влияния аутоиммунного тиреоидита на формирование аутоиммунного поражения яичников путем определения взаимосвязей между уровнями антиовариальных антител, антител к тиреопероксидазе, а также гонадотропных, половых гормонов, функциональным состоянием яичников и щитовидной железы.

**Материал и методы.** Обследовано 198 девочек 10-18 лет: из них 166 - больных АИТ (группа АИТ+) и 32 - без АИТ (группа АИТ-). Обе группы были сопоставимы по возрасту и индексу массы тела (ИМТ).

Дети осмотрены эндокринологом, диагноз АИТ верифицирован специалистом. Возраст возникновения АИТ у девочек колебался от 7 до 14 лет, в среднем,  $12,46 \pm 0,56$  лет. У 152 (92%) обследованных АИТ имел гипертрофическую форму, у 14 (8%) - атрофическую. По функциональному состоянию ЩЖ гипотиреоз диагностирован у 72 (43,37%) девочек, субклинический гипотиреоз - у 24 (14,45%), 70 (42,16%) девочек пребывали в состоянии эутиреоза.

Всем девочкам проведена оценка физического и полового развития по Таннер, рассчитан ИМТ, определен уровень гормонов крови, в частности: фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), эстрадиол (Э), прогестерон (Прог), общий тестостерон (Тест. об.), свободный тестостерон (Тест. св.), пролактин (Прл), свободный тироксин ( $T_{4cb}$ ), тиреотропный гормон (ТТГ), антитела к тиреопероксидазе (АТПО) иммунохемилюминисцентным методом и анитиовариальных антител (АОАТ) - иммуноферментным методом ELISA с использованием тест системы Bioserv Diagnostics (Германия).

Ультразвуковое исследование органов малого таза выполнено на аппарате Philips HD11-HE (США). При трансабдоминальном исследовании определяли размеры матки, размеры и структуру яичников, толщину эндометрия, оценивали структуру миометрия.

Объем яичников (ОЯ) рассчитывали по формуле:  
 $V = 0,5236 \times L \times W \times T$ ,

где: L - длина, W - ширина, T - предне-задний размер яичника.

Средний ОЯ подсчитывался как среднее арифметическое данных объемов правого и левого яичников.

Проводился подсчет количества антральных фолликулов (КАФ) диаметром от 2 до 6 мм в обоих яичниках, определялось среднее арифметическое количества фолликулов в левом и правом яичниках.

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами вариационной статистики с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0. Результат приведен как  $M \pm m$ , где M - среднее значение показателя, m - стандартная ошибка. Достоверность различий между показателями определялась с помощью t-критерия Стьюдента. Для исследования взаимосвязи между показателями проводился корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Пирсона (r).

**Результаты и их обсуждение.** Средний возраст девочек группы АИТ + составил  $13,50 \pm 2,36$  лет, девочек группы АИТ- -  $13,05 \pm 2,75$  лет.

В группе АИТ+ у девочек отмечался больший процент нарушений менструального цикла в сравнении с группой АИТ-: 74 (44,57%) против 10 (31,25%),  $p < 0,05$ . Дисменореей отмечали 40 (24,09%) девочек группы АИТ+ и 4 (12,5%) группы АИТ-,  $p < 0,05$ . Клиническая и гормональная характеристика приведена в таблице 1.

Изучая данные обследования двух групп выявлена достоверная разница между уровнями ТТГ, АТПО, что объясняется наличием тиреоидной патологии в группе АИТ+. Известно, что изменения в уровне ТТГ при гипотиреозе у девочек вызывают каскад сдвигов

Таблица 1. Клиническая и гормональная характеристика обследованных групп

Группы Данные обследования	АИТ+, n=166	АИТ-, n=32	Достоверность различий, p
Возраст, годы	$13,50 \pm 2,36$	$13,05 \pm 2,75$	$p > 0,05$
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$18,55 \pm 2,66$	$18,01 \pm 1,96$	$p > 0,05$
Э, пг/мл	$48,45 \pm 2,88$	$48,75 \pm 7,09$	$p > 0,05$
Прог, пг/мл	$1,24 \pm 0,20$	$2,26 \pm 1,10$	$p < 0,05$
Прл, нг/мл	$12,63 \pm 0,79$	$10,13 \pm 1,05$	$p < 0,05$
ФСГ, мОд/мл	$4,63 \pm 0,15$	$4,71 \pm 0,32$	$p > 0,05$
ЛГ, мОд/мл	$6,27 \pm 0,47$	$4,50 \pm 0,62$	$p < 0,05$
Тест. об, нг/мл	$0,25 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,02$	$p > 0,05$
Тест. св, пг/мл	$1,65 \pm 0,73$	$1,49 \pm 0,94$	$p < 0,05$
АОАТ, МЕ/мл	$4,68 \pm 0,09$	$4,48 \pm 0,18$	$p > 0,05$
ТТГ, мкМЕ/мл	$9,05 \pm 1,80$	$2,31 \pm 0,12$	$p < 0,001$
$T_{4cb}$ , нг/дл	$1,13 \pm 0,01$	$1,19 \pm 0,03$	$p > 0,05$
АТПО, МЕ/мл	$383,06 \pm 33,41$	$12,89 \pm 2,99$	$p < 0,001$
ОЯ, см <sup>3</sup>	$6,48 \pm 3,43$	$4,89 \pm 2,80$	$p < 0,05$
КАФ, шт.	$7,24 \pm 3,21$	$8,33 \pm 2,24$	$p > 0,05$

в гормональном гомеостазе, наиболее характерными из них являются снижение ФСГ, ЛГ, повышение Прл, Тест. об [10,16,17]. Уровни ЛГ, Прл, Тест. св достоверно выше в группе АИТ+. Однако, достоверной разницы между уровнями АОАТ, уровнями ФСГ, Э, Тест. об при сравнении этих двух групп не выявлено (рис. 1-4).

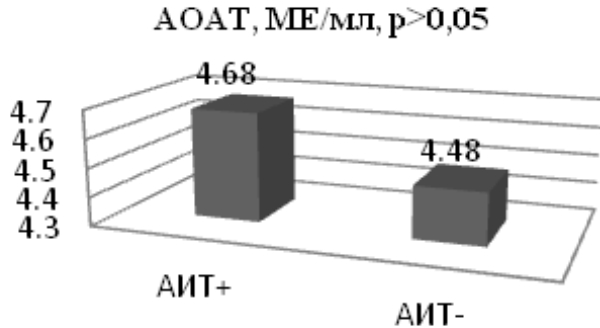


Рис. 1. Уровень АОАТ в группах АИТ+ и АИТ-

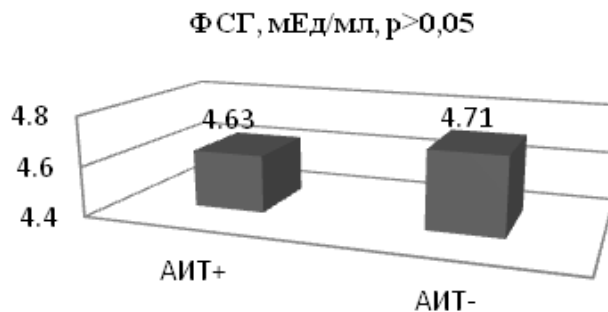


Рис. 2. Уровень ФСГ в группах АИТ+ и АИТ-

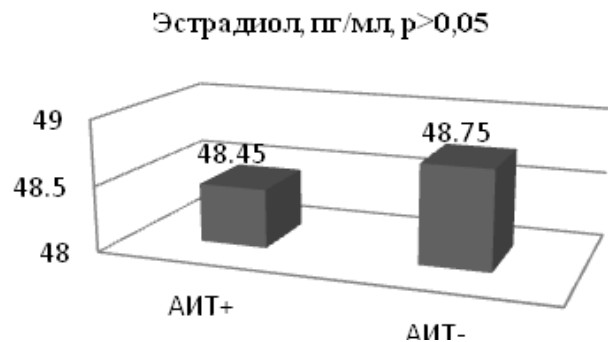


Рис. 3. Уровень Э в группах АИТ+ и АИТ-

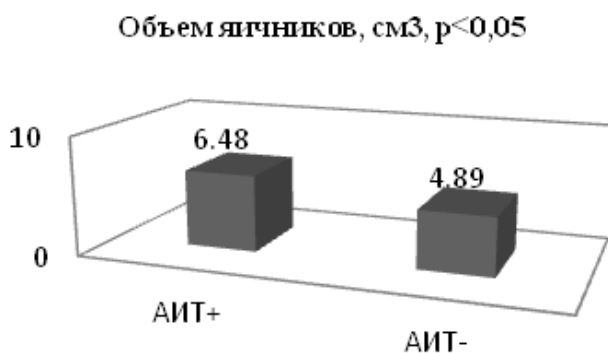


Рис. 4. Объем яичников в группах АИТ+ и АИТ-

Функциональное состояние яичников оценивали по данным УЗИ, в частности по их размеру, структуре, состоянию фолликулярного аппарата. Bakalov V.K. и соавт. [2] отмечали нормальные или увеличенные размеры яичников у женщин с АИТ, что совпадает с полученными в нашем исследовании данными: ОЯ у девочек группы АИТ+ достоверно больше, а уровень КАФ меньше, без выявления достоверности в сравнении с группой АИТ-.

В результате проведенного корреляционного анализа в группе АИТ+ выявлены прямые корреляционные связи между АТПО и ЛГ ( $r=0,23$   $p<0,05$ ), АТПО и ТТГ ( $r=0,27$   $p<0,05$ ); обратные корреляционные связи между АТПО и Э ( $r=-0,17$   $p<0,05$ ), АТПО и ФСГ ( $r=-0,27$   $p<0,05$ ), АТПО и  $T_{4cb}$  ( $r=-0,18$   $p<0,05$ ), что, по всей вероятности, указывает на возможный механизм именно аутоиммунного компонента, который негативно влияет на гормональный гомеостаз девочек с АИТ.

Выявлены прямые корреляционные связи между уровнем АОАТ и возрастом девочек ( $r=0,27$   $p<0,05$ ), уровнем Э ( $r=0,17$   $p<0,05$ ), Прог ( $r=0,15$   $p<0,05$ ), ОЯ ( $r=0,37$   $p<0,05$ ) и ЛГ ( $r=0,21$   $p<0,05$ ), Тест. св ( $r=0,24$   $p<0,05$ ) и Тест. об ( $r=0,15$   $p<0,05$ ).

В группе АИТ- выявлены корреляционные связи между АТПО и Э ( $r=0,413$   $p<0,05$ ), ЛГ ( $r=0,38$   $p<0,05$ ), Тест. об ( $r=0,64$   $p<0,05$ ) и ОЯ ( $r=0,51$   $p<0,05$ ); прямые корреляционные связи между АОАТ и возрастом девочек ( $r=0,57$   $p<0,05$ ), Прог ( $r=0,37$   $p<0,05$ ), Тест. св ( $r=0,35$   $p<0,05$ ), между ЛГ ( $r=0,67$   $p<0,05$ ), Тест. об ( $r=0,86$   $p<0,05$ ), Тесто св ( $r=0,72$   $p<0,05$ ).

Интерес вызывает тот факт, что корреляционная связь между АОАТ и возрастом девочек выявлена как в группе АИТ+, так и АИТ-.

Для анализа взаимосвязей АОАТ с различными звеньями гормонального гомеостаза данные АОАТ были разделены на три тертиля. В первом тертиле ( $n=75$ ) уровень АОАТ соответствовал значениям от 2,5 до 4 МЕ/мл, во втором тертиле ( $n=54$ ) - от 4,01 до 5 МЕ/мл, в третьем тертиле ( $n=69$ ) - от 5,01 до 7,3 МЕ/мл. Клиническая и гормональная характеристика девочек групп АИТ+ и АИТ- в зависимости от тертилей приведена в таблице 2.

Анализ полученных данных выявил, что уровень АОАТ увеличивается в соответствии с возрастом девочек: наименьшие уровни АОАТ определены в I тертиле, наибольшие - в III тертиле, причем в группе АИТ+ уровень АОАТ достоверно выше, чем в группе АИТ-. Предполагаем, что у детей уровни АОАТ редко достигают референтных значений, в то время как у взрослых женщин уровни АОАТ входят в референтный интервал. Вышеприведенные данные позволяют сделать вывод, что с течением времени, по мере взросления и увеличения длительности заболевания АИТ, девочки подростки из АОАТ негативных превратятся в АОАТ позитивных, к этому моменту повреждающий механизм аутоиммунного процесса будет уже запущен.

В соответствии с полученными данными в I тертиле достоверной разницы в ОЯ и КАФ между группами не выявлено, во II и III тертилях ОЯ достоверно боль-

ше у девочек группы АИТ+, достоверной разницы в КАФ не обнаружено. По мере увеличения возраста, увеличиваются и уровни Э, ФСГ, ЛГ, Тест. об и ОЯ, что следует объяснить процессами взросления. Однако в III тертиле уровень Э, Прог, ФСГ достоверно ниже, а уровни Прл, ЛГ, Тест. об достоверно выше в группе АИТ+,

чем в группе АИТ-. Учитывая наличие достоверно повышенного уровня АОАТ в III тертиле группы АИТ+ в сравнении с АИТ-, следует предположить, что дисбаланс гормонального гомеостаза в группе АИТ+ в сравнении с АИТ- объясняется как дисфункцией ЩЖ, так и наличием аутоиммунного компонента (рис. 5-9).

Таблица 2. Клиническая и гормональная характеристика девочек групп АИТ+ и АИТ- в зависимости от тертилей

Данные обследования	I тертиль		II тертиль		III тертиль	
	АИТ+, n=64	АИТ-, n=11	АИТ+, n=44	АИТ-, n=10	АИТ+, n=58	АИТ-, n=11
Возраст, годы	12,65± 2,16	11,45± 1,58	13,59± 2,43	12,75± 2,96	14,38± 2,61	14,86± 2,23
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	17,48± 2,71	17,92± 1,50	19,39± 2,09*	16,98± 2,65	19,09± 2,63	18,78± 1,65
Э, пг/мл	45,37± 14,00*	39,83± 14,05	39,06± 19,91	35,41± 16,85	58,98± 17,57*	66,57± 14,24
Прог, пг/мл	0,92± 0,28	0,30± 0,05	1,08± 0,61*	0,33± 0,24	1,70± 3,55*	5,51± 1,55
Прл, нг/мл	11,35± 4,36	8,32± 3,09	12,45± 4,00	13,25± 5,14	14,19± 6,28*	9,88± 1,50
ФСГ, мЕд/мл	4,06± 2,27	4,87± 1,89	5,31± 1,43*	2,99± 1,71	4,75± 1,89*	5,71± 0,95
ЛГ, мЕд/мл	3,84± 1,90	4,34± 1,87	7,47± 1,23*	1,59± 1,24	8,03± 1,41*	6,61± 1,67
Тест. об, нг/мл	0,20± 0,16	0,20± 0,21	0,24± 0,15*	0,14± 0,12	0,31± 0,17*	0,26± 0,10
Тест. св., пг/мл	1,39± 0,82	1,29± 0,63	1,58± 0,91*	1,07± 0,63	1,99± 1,01	1,98± 0,64
ТТГ, мкМЕ/мл	14,61± 5,69*	2,10± 0,76	7,48± 4,58*	2,29± 0,88	4,11± 3,23*	2,54± 0,41
T <sub>4св</sub> , нг/дл	1,10± 0,26	1,14± 0,10	1,17± 0,27	1,26± 0,29	1,12± 0,22	1,19± 0,09
А-ТПО, МЕ/мл	441,36± 40,86*	21,63± 15,75	456,58± 50,23*	7,63± 3,32	262,96± 67,86*	7,67± 1,79
АОАТ, МЕ/мл	3,46± 0,44	3,30± 0,15	4,62± 0,27	4,62± 0,33	6,06± 0,70*	5,56± 0,27
ОЯ, см <sup>3</sup>	4,93± 3,23	4,13± 3,19	6,69± 3,11*	4,84± 2,80	8,03± 3,19*	5,69± 2,38
КАФ, шт	8,24± 3,12*	7,13± 2,75	6,23± 2,13	8,56± 1,17	7,31± 2,26	9,42± 3,16

примечание: \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой АИТ-



Рис. 5. Возрастная характеристика групп

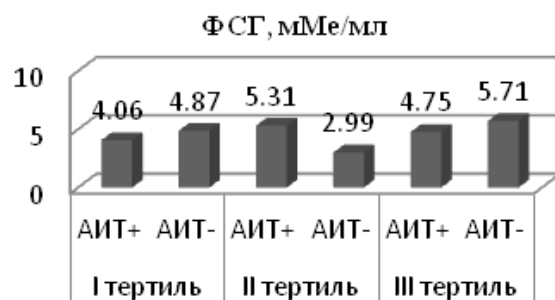


Рис. 6. Уровни ФСГ в группах АИТ+ и АИТ- в зависимости от тертилей,  $p < 0,05$  во II и III тертиле



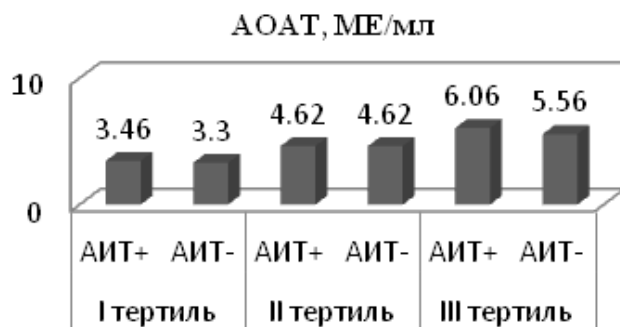


Рис. 7. Уровни АОАТ в группах АИТ+ и АИТ- в зависимости от тертилей,  $p < 0,05$  в III тертиле

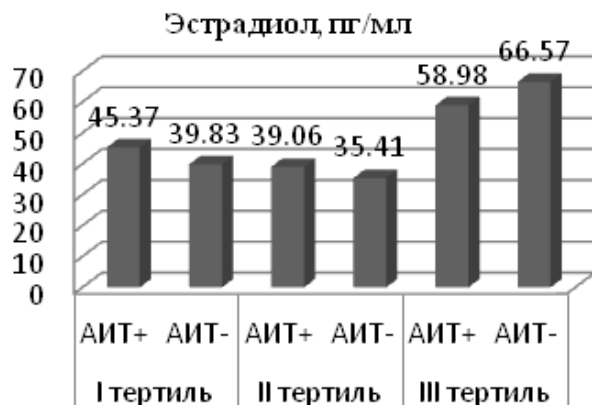


Рис. 8. Уровни эстрадиола в группах АИТ+ и АИТ- в зависимости от тертилей,  $p < 0,05$  в III тертиле



Рис. 9. Объем яичников в группах АИТ+ и АИТ- в зависимости от тертилей,  $p < 0,05$  во II и III тертиле

В результате проведенного корреляционного анализа в I тертиле группы АИТ+ выявлена прямая корреляционная связь между Э и возрастом девочек ( $r=0,56$   $p < 0,05$ ), Прог ( $r=0,64$   $p < 0,05$ ), ЛГ ( $r=0,70$   $p < 0,05$ ), ОЯ ( $r=0,70$   $p < 0,05$ ), а также между уровнем Прог и  $T_{4cb}$  ( $r=0,32$   $p < 0,05$ ), ОЯ ( $r=0,66$   $p < 0,05$ ). Установлены прямые корреляционные связи между Прл и Прог ( $r=0,65$   $p < 0,05$ ),  $T_{4cb}$  ( $r=0,25$   $p < 0,05$ ), между уровнями ФСГ и ЛГ ( $r=0,46$   $p < 0,05$ ), между уровнями ЛГ и Тест. об ( $r=0,69$   $p < 0,05$ ), Тест. св ( $r=0,72$   $p < 0,05$ ), ОЯ ( $r=0,56$   $p < 0,05$ ), обратная корреляционная связь между ТТГ и  $T_{4cb}$  ( $r=-0,80$   $p < 0,05$ ), ФСГ и Прл ( $r=-0,26$   $p < 0,05$ ).

Анализируя взаимосвязь уровней аутоантител в I тертиле группы АИТ+ выявлена прямая корреляци-

онная связь между уровнями АОАТ и уровнем Прл ( $r=0,59$   $p < 0,05$ ), ОЯ ( $r=0,56$   $p < 0,05$ ), а также прямые корреляционные связи между уровнями АТПО и ТТГ ( $r=0,48$   $p < 0,05$ ); обратная корреляционная связь между АТПО и уровнем  $T_{4cb}$  ( $r=-0,49$   $p < 0,05$ ).

Во II тертиле группы АИТ+ выявлены прямые корреляционные связи между Э и ОЯ ( $r=0,37$   $p < 0,05$ ), ЛГ и Тест. об ( $r=0,30$   $p < 0,05$ ), АТПО и ЛГ ( $r=0,85$   $p < 0,05$ ), АТПО и Тест. св ( $r=0,30$   $p < 0,05$ ) и отрицательные корреляционные связи между АТПО и ФСГ ( $r=-0,33$   $p < 0,05$ ), а также прямые корреляционные связи между АОАТ и ФСГ ( $r=0,40$   $p < 0,05$ ), отрицательные корреляционные связи между АОАТ и ТТГ ( $r=-0,37$   $p < 0,05$ ).

В III тертиле группы АИТ+ выявлены корреляционные связи между ЛГ и Тест. об ( $r=0,78$   $p < 0,05$ ), АТПО и АОАТ ( $r=0,38$   $p < 0,05$ ), и обратная корреляционная связь между АОАТ и ЛГ ( $r=-0,39$   $p < 0,05$ ).

В I тертиле группы АИТ- выявлены следующие прямые корреляционные связи: между Э и возрастом ( $r=0,70$   $p < 0,05$ ), ЛГ ( $r=0,73$   $p < 0,05$ ), ОЯ ( $r=0,91$   $p < 0,05$ ), между уровнем АТПО и Э ( $r=0,97$   $p < 0,05$ ), АТПО и ЛГ ( $r=0,67$   $p < 0,05$ ), АТПО и Тест. об ( $r=0,88$   $p < 0,05$ ), АТПО и ОЯ ( $r=0,96$   $p < 0,05$ ), а также отрицательные корреляционные связи между АОАТ и Прог ( $r=-0,65$   $p < 0,05$ ), АОАТ и ФСГ ( $r=-0,73$   $p < 0,05$ ).

Во II тертиле группы АИТ- выявлены прямые корреляционные связи между уровнями Э и ОЯ ( $r=0,73$   $p < 0,05$ ), ФСГ и ЛГ ( $r=0,99$   $p < 0,05$ ), Тест. об ( $r=0,99$   $p < 0,05$ ), ОЯ ( $r=0,83$   $p < 0,05$ ), АТПО и Э ( $r=0,78$   $p < 0,05$ ), уровнями АОАТ и Прог ( $r=0,71$   $p < 0,05$ ), АОАТ и ТТГ ( $r=0,95$   $p < 0,05$ ).

В III тертиле группы АИТ- выявлены прямые корреляционные связи между уровнями ТТГ и ФСГ ( $r=0,73$   $p < 0,05$ ), Тест. об ( $r=0,74$   $p < 0,05$ ),  $T_{4cb}$  ( $r=0,68$   $p < 0,05$ ), возрастом ( $r=0,61$   $p < 0,05$ ), между Э и ЛГ ( $r=0,64$   $p < 0,05$ ), ОЯ ( $r=0,78$   $p < 0,05$ ), уровнями АОАТ и ТТГ ( $r=0,83$   $p < 0,05$ ), АОАТ и АТПО ( $r=0,57$   $p < 0,05$ ).

Анализируя полученные данные выявлено наличие многочисленных корреляционных связей между АТПО, АОАТ, гонадотропными, половыми гормонами, ТТГ, ОЯ во всех тертилях как группы АИТ+, так и АИТ-, что позволяет сделать следующий вывод: на фоне АИТ происходят нарушения на всех уровнях регуляции гормонального гомеостаза, а также в структуре яичников.

Корреляционная связь между уровнем АОАТ и ОЯ выявлена только в I тертиле группы АИТ+, между АОАТ и АТПО в III тертиле группы АИТ+ и АИТ-, что свидетельствует о возникновении аутоиммунных изменений в яичниках на фоне АИТ. Такой механизм не возникает моментально, может быть растянут во времени, что с годами приводит к изменению стероидогенеза в яичниках, срыву компенсаторных механизмов и возникновению патологических взаимосвязей между центрами регуляции менструального цикла у девочки, девушки, его изменением, а со временем, возможно, и развитием ПНЯ, уже когда девушка достигает взрослого возраста.

Таким образом, наличие АОАТ можно расценивать как предиктор нарушения функции яичников до начала клинических проявлений, что особенно важно для прогнозирования реализации репродуктивной функции девочек-подростков с АИТ.

#### **Выводы.**

1. На этапах формирования репродуктивной функции АИТ негативно влияет на механизмы гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси у подростков, приводя к дисбалансу взаимодействия гонадотропных и половых гормонов.
2. Наличие аутоантител к ЩЖ ассоциируется с формированием аутоиммунного поражения яичников с возрастом, что проявляется в изменениях в структуре и размерах яичников по данным УЗИ и не исключает возможности развития аутоиммунного поражения яичников.
3. С целью более точного выяснения механизма аутоиммунного поражения яичников на фоне АИТ необходимы дальнейшие исследования для анализа формирования репродуктивной функции в возрастном аспекте.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Amarosa E, Nascimento A, Hornstein M, Crum C. Benign conditions of the ovary. In: Crum CP, Nucci MR, Lee KR, editors. Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011; p. 679-716.
2. Bakalov V, Anasti J, Calis K, Vanderhoof V, Premkumar A, Chen S, et al. Autoimmune oophoritis as a mechanism of follicular dysfunction in women with 46, XX spontaneous premature ovarian failure. *Fertil Steril*; 2005; 84: p. 958-965.
3. Dragojević-Dikić S. An immunological insight into premature ovarian failure (POF) [et al.] // *Autoimmun. Rev*; 2010; Vol. 9. – P. 771–774
4. Forges T, Monnier-Barbarino P, Faure G, Bene M. Autoimmunity and antigenic targets in ovarian pathology. *Hum Reprod Update*; 2004; 10: p. 163-175.
5. Ganie M, Marwaha R, Aggarwal R, Singh S. High prevalence of polycystic ovary syndrome characteristics in girls with euthyroid chronic lymphocytic thyroiditis: a case-control study. *Eur J Endocrinol*; 2010; 162: p. 1117–1122
6. Garelli S, Masiero S, Plebani M, et al. High prevalence of chronic thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*; 2013; 169: p. 248–251.
7. Jacob S, Koc M. Autoimmune oophoritis: A rarely encountered ovarian lesion. *Indian J Pathol Microbiol*; 2015; 58: p. 249-251.
8. Kachuei M, Jafari F, Kachuei A, Keshteli AH. Prevalence of autoimmune thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet*; 2012; 285: p. 853–856.
9. Khole V. Does ovarian autoimmunity play a role in the pathophysiology of premature ovarian insufficiency? *J Midlife Health*; 2010; 1: p. 9-13.
10. Krassas G, Poppe K, and Glinoe D. Krassas GE, Poppe K, Glinoe D. Thyroid function and human reproductive health. *Endocr Rev*.2010; 31:702–755.
11. Luborsky J, Pong R. Pregnancy outcome and ovarian anti-

bodies in infertility patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Am J Reprod Immunol*; 2000; 44: 261-265.

12. Luborsky J, Roussev R, Coulam C. Ovarian antibodies, FSH and inhibin are markers associated with unexplained infertility. *Hum Reprod*; 2000; 15: 1046-1051.
13. Luborsky, J. Ovarian autoimmune disease and ovarian auto-antibodies / J. Luborsky // J. Women's Health Gend. Based Med; 2002; Vol. 11. – P. 585-599.
14. Monteleone P. et al. Female infertility related to thyroid autoimmunity: the ovarian follicle hypothesis // *Am. J. Reprod. Immunol*; 2011; Vol. 66 (2). – P. 108–114
15. Nelson L. Primary ovarian insufficiency. *N Engl J Med*; 2009; 360: p. 606-614.
16. Poppe K, Velkeniers B, Glinoe D. Thyroid disease and female reproduction. *Clin Endocrinol (Oxf)*; 2007; 66: p. 309–321
17. Sanjay Saran, Bharti Sona Gupta, Rajeev Philip, Kumar Sanjeev Singh, Suresh Rao Anoop Bende, Puspallata Agroiya, Pankaj Agrawal. Effect of hypothyroidism on female reproductive hormones., *Indian J Endocrinol Metab*.2016 Jan-Feb; 20(1): 108–113.
18. Vallotton M, Forbes A. Antibodies to cytoplasm of ova.; *Lancet* 1996; 2: p. 264-265.
19. Varras M, Anastasiadis A, Panelos J, Balassi E, Demou A, Akrivis CH. Autoimmune oophoritis: Clinical presentation of an unusual clinical entity. *OA Case Rep*; 2013; 2: p. 7.

#### **SUMMARY**

#### **ON THE ISSUE OF AUTOIMMUNE OVARY DAMAGE DURING PUBERTY**

**Tatarchuk T., Zakharenko N., Bachynska I., Kosey N.**

*Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, NAMS of Ukraine, Endocrine Gynecology Section, Kyiv; National Children's Clinical Hospital "OKHMATDYT", Department of Pediatric and Adolescent Gynecology, Kyiv, Ukraine*

The aim of the study was to ascertain the influence of AIT on the formation of autoimmune damage to ovaries by determining the connections between the levels of AOAB, ATPO, gonadotropic and sex hormone levels, and the functional state of the ovaries and thyroid gland.

198 girls age 10-18 were studied: 166 with AIT (AIT+ Group), и 32- without AIT (the AIT- Group).

A defined difference between TTH. and ATPO, was revealed, which is explained by the presence of thyroid pathology in the AIT+ Group. Prolactin levels and ovarian volume were notably higher, while Progesterone levels were lower in the AIT+ Group. No discernable differences among levels of AOAB, sex hormones, Estrogen, Testosterone or antral follicles were observed. A direct correlation was revealed between AOAB levels and the girls' age both in the AIT+ and AIT- groups.

AOAB data was divided into three tertials in order to study links with various hormonal homeostasis.

Analysis of data obtained showed numerous correlative links between ATPO, AOAB, gonadotropins, sex hormones,

TTH and ovarian volume in all tertials of both the AIT+ and AIT- groups; correlative links were found, too, between AOAB and ATPO in the III tertial groups AIT+ and AIT-.

In adolescents with AIT disbalance occurs at all levels of hormonal homeostasis as well as in ovarian structure. Such changes and the presence of ATPO and AOAB may be associated with emerging autoimmune ovary damage.

**Keywords:** antiovarian antibodies, autoimmune thyroiditis, pubertal period.

## РЕЗЮМЕ

### ФОРМИРОВАНИЕ АУТОИММУННОГО ПОРАЖЕНИЯ ЯИЧНИКОВ В ПУБЕРТАТНОМ ПЕРИОДЕ

Татарчук Т.Ф., Захаренко Н.Ф., Бачинская И.В., Косей Н.В.

*«Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», отдел эндокринной гинекологии, Киев; Национальная детская специализированная больница «Охматдет», отделение детской и подростковой гинекологии, Киев, Украина*

Целью исследования явилось определение влияния аутоиммунного тиреоидита на формирование аутоиммунного повреждения яичников путем определения взаимосвязей между уровнями антиовариальных антител (АОАТ), антител к тиреопероксидазе (АТПО), уровнем гонадотропных, половых гормонов, функциональным состоянием яичников и щитовидной железы.

Обследовано 198 девочек 10-18 лет: 166 - больных аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) - группа АИТ+ и 32- без АИТ (группа АИТ-).

В результате проведенного исследования выявлена достоверная разница между уровнями тиреотропного гормона и АТПО, что объясняется наличием тиреоидной патологии в группе АИТ+. Уровень пролактина и объем яичников достоверно выше, а уровень прогестерона достоверно ниже в группе АИТ+. Достоверной разницы между уровнями АОАТ, фолликулостимулирующим гормоном, эстрадиолом, общим тестостероном и количеством антральных фолликулов не выявлено. Выявлена прямая корреляционная связь между АОАТ и возрастом девочек как в группе АИТ+, так и АИТ-.

Для анализа взаимосвязей АОАТ с различными звеньями гормонального гомеостаза данные АОАТ разделены на три тертиля.

Анализируя полученные данные отмечено наличие многочисленных корреляционных взаимосвязей между АТПО, АОАТ, гонадотропными, половыми гормонами, тиреотропным гормоном, объемом яичников во всех тертилях как в группе с АИТ+, так и АИТ-. Выявлена также корреляционная связь между АОАТ и АТПО в III тертиле группы АИТ+ и АИТ-.

На основании результатов проведенного исследования следует заключить, что у подростков на фоне аутоиммунного тиреоидита происходят нарушения на всех уровнях регуляции гормонального гомеостаза, а также в структуре яичников. Такие изменения как наличие АТПО и АОАТ могут ассоциироваться с возможным формированием аутоиммунного поражения яичников.

რეზიუმე

აუტოიმუნური დაზიანების განვითარება პუბერტატულ პერიოდში

ტ. ტატარჩუკი, ნ. ზახარენკო, ბ. ბაჩინსკაია, ნ. კოსეი

უკრაინის ეროვნული სამედიცინო აკადემიის პედიატრიის, მეან-გინეკოლოგიის ინსტიტუტი, ენდოკრინული გინეკოლოგიის განყოფილება, კიევი; "ოხმატდეტ", ბავშვთა და მოზარდთა გინეკოლოგიის განყოფილება, კიევი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა აუტოიმუნური თირეოიდიტის გავლენის შეფასება საკვერცხეების აუტოიმუნური დაზიანების ფორმირებაზე ანტიოვარიულ ანტისხეულებს (აოას), თირეოპეროქსიდაზას ანტისხეულებს, გონადოტროპული და სასქესო ჰორმონების დონეს, ასევე, საკვერცხეებისა და ფარისებრი ჯირკვლის ფუნქციურ მდგომარეობას შორის ურთიერთკავშირის განსაზღვრის გზით.

გამოკვლეულია 10-18 წლის 198 გოგონა, მათგან 166 – აუტოიმუნური თირეოიდიტით, 32 - აუტოიმუნური თირეოიდიტის გარეშე.

კვლევის შედეგად დადგენილია სარწმუნო განსხვავება თირეოტროპული ჰორმონისა და თირეოპეროქსიდაზას ანტისხეულების დონეს შორის, რაც განპირობებულია თირეოიდული პათოლოგიის არსებობით აუტოიმუნური თირეოიდიტით დაავადებულთა ჯგუფში. ამავე ჯგუფში პროლაქტინის დონე და საკვერცხეების მოცულობა სარწმუნოდ მეტია, ხოლო პროგესტერონისა – სარწმუნოდ ნაკლებია. ანტიოვარიულ ანტისხეულებს, ფოლიკულმასტიმულირებელ ჰორმონს, ესტრადიოლს, საერთო ტესტოსტერონს და ანტირალური ფოლიკულების რაოდენობას შორის სარწმუნო სხვაობა არ გამოვლინდა. დადგენილია პირდაპირი კორელაციური კავშირი ანტიოვარიულ ანტისხეულებსა და გოგონების ასაკს შორის როგორც აუტოიმუნური თირეოიდიტით დაავადებულთა, ასევე, ჯგუფში აუტოიმუნური თირეოიდიტის გარეშე. ანტიოვარიული ანტისხეულების კავშირის ანალიზის მიზნით ჰორმონული ჰომეოსტაზის სხვადასხვა რგოლთან ანტიოვარიული ანტისხეულების მაჩვენებლები დაიყო სამ ნაწილად. დადგენილია მრავალრიცხოვანი კორელაციური დამოკიდებულების არსებობა თირე-

ოპეროქსიდაზას ანტისეულეების, ანტიოვარიული ანტისეულეების მახვენებლებს, გონადოტროპულ და სასქესო ჰორმონებს, თირეოტროპულ ჰორმონს, საკვერცხეების მოცულობას შორის როგორც აუტოიმუნური თირეოიდიტით დაავადებულებში, ასევე, ჯგუფში აუტოიმუნური თირეოიდიტის გარეშე. ჩატარებული კვლევის შედეგების ანალიზის საფუძველზე ავტორები დაასკვნიან,

რომ მოზარდებში აუტოიმუნური თირეოიდიტის ფონზე დარღვევები ვითარდება ჰორმონული ჰომეოსტაზის ყველა დონეზე და საკვერცხეების სტრუქტურაში. სავარაუდოა, რომ თირეოპეროქსიდაზას და ანტიოვარიული ანტისეულეების არსებობა ასოცირდება საკვერცხეების აუტოიმუნური დაზიანების განვითარებასთან.

## CORRELATION BETWEEN PERINATAL RISK FACTORS AND NEURODEVELOPMENTAL OUTCOMES IN CHILDREN AT 24 MONTHS OF AGE

<sup>2</sup>Tskimanauri N., <sup>1</sup>Khachapuridze N., <sup>3</sup>Imnadze P., <sup>2</sup>Chanadiri T., <sup>1</sup>Bakhtadze S.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University; <sup>2</sup>Neurological Clinic LTD "Valeo", Tbilisi;

<sup>3</sup>I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia

Infants exposed to some perinatal risk factors are at increased risk of neurodevelopmental problems throughout early childhood. Multiple perinatal risk factors are associated with a delayed development of nervous system in children population [1]. Some of them are strongly identified, such as pregnancy and delivery associated factors, cerebral pathology, genotype and other characteristics of child [8].

At present, thorough and standardized neurological examination of newborns helps to identify groups with predictable moderate to severe neurological abnormalities.

Although congenital anomalies may be the result of one or more genetic, infectious, nutritional or environmental factors, it is often difficult to identify the exact causes. It is known that congenital hypothyroidism (CH) is the most common reason for mental retardation, normal neurological development can be achieved through early and effective treatment, but the clinical manifestations are often subtle or not present at birth [13]. Buluş A.D., Tiftik E. [5] evaluated the neurological development of CH patients and healthy control subjects aged 24-56 months and did not find significant differences between the CH and control groups with respect to gestational age, birth weight, height standard deviation scores (HSDS) and body weight standard deviation scores (BWSDS) ( $p>0.05$ ). When the groups were compared according to the Denver Developmental Screening Test (DDST), no significant differences were found in terms of personal-social, fine motor skills, or language development. However, a significant difference was found between the two groups with respect to gross motor development and the result of the DDST ( $p=0.001$ ). No statistical difference was found between the control and patient groups on the day of starting treat-

ment but the number of patients with an abnormal result in the DDST starting treatment at  $>15$  days was found to be significantly higher than the number of patients starting treatment  $\leq 15$  days. No associations were found between the DDST results of the CH group and the following factors: initial L-thyroxine (LT4) level, initial LT4 dose and the onset of treatment. The findings of their study indicate that the DDST results in patients with CH are generally good. Initiating treatment immediately after diagnosis and during the first days of life is absolutely imperative. Despite a large number of reports on the prevalence of maternal and child-related disorders, determined as independent risk factors associated with and/or causing neurodevelopmental disorders in developed countries, data from the developing world is scarce [5].

The purpose of this research was to investigate the developmental follow-up of infants at 24 month of age, exposed to separate and combination impact of perinatal risk factors and neonatal pathologies, compared with not exposed cases, within the prospective cohort study.

**Material and methods.** Between January 2015 and December 2016, we prospectively enrolled 1018 live-born infants, information about which we had received from the medical reports of the participating clinics in Tbilisi (capital of Republic of Georgia) and Mtskheta, Dusheti (districts of Georgia), and included them in the study.

At the first stage of research it was conducted descriptive population-based prospective pilot study, as a result of which:

a) were defined three study groups: Group I (Low Risk) with healthy born 715 newborns; Group II (Risk) with healthy 215 newborns born from pathological pregnancy and/or delivery and Group III (High Risk) with 88



newborns born with different disorders manifested at neonatal period;

b) was revealed risk factors, which were common (distinguished by high prevalence rates) and highly associated (characterized by high reliability risk ratio measures) with epidemiological distribution of the pathological conditions (such as “maternal age <17Y>35Y”, “pathologies of pregnancy”, “pathologies of delivery”, “gestation age of newborns <37 week”), and outcomes of newborns, as described in previous publications.

Within final phase of research, including postnatal follow-up between Jan. 2017 - Jan. 2018, the children from whole population were assessed at 24 months of age. Examinations consisted of developmental, neurological and behavioral assessments; medical history; and parent interviews performed in following areas of function: Gross motor, Fine motor, Language, Personal-social by using the Denver Developmental screening Test (Denver II). For the developmental category of infants there were established two means of variability: “normal development” and “abnormal development”.

Epidemiological measurements, such as point prevalence (PP- expressed as a percentage) and odds ratio (OR) of impact of risk factors and neonatal pathologies, were investigated to quantify how strongly the presence or absence of risk factors/neonatal pathologies were associated with the two ways (normal or abnormal development) of infant’s development in a given population.

The odds ratio (OR), its standard error and 95% confidence interval are calculated according to Correlations between the candidate risk factors and delayed motor or mental development, described as normal or abnormal development, was analyzed by Chi-square test of independence. Statistical analysis of these data was performed using the SPSS version 12.0.1 (SPSS Inc., Chicago, IL). A P value of less than 0.01 was considered significant.

### Results and their discussion.

#### 1.1 Statistical measurements of neurodevelopmental outcomes

At the final stage of evaluation (conducted at age of 24 month) abnormal development was identified totally in 30 cases (PP-2.9% from whole population). These cases were distributed in groups: from healthy born newborns groups developmental impairments were identified in 1 cases in I study group (PP – 0.1% from 715 infants) and in 9 cases in II Group (PP – 4.2% from 215 infants). In most vulnerable III Group (where were placed newborns because of born with some neonatal pathologies) prevalence

of children with abnormal development was greater (PP – 22.7% or 20 cases from 88 infants) as shown in Table 1.

During the whole neurological follow-up it was established that neurodevelopmental problems had been overcome most significantly in those children who born without some neonatal pathologies. If only in 10 cases it was persisted abnormalities in motor and mental sphere (in I and II Group) at age of 24 month (from 35 children who had developmental disorders at age of 6 month and 15 of them at age of 12 month), while it had been revealed a little progress in children who born with some neonatal pathologies – 20 children at age of 24 month (from 21 children at age of 12 month) were assessed as abnormal.

#### 1.2 Correlations between prenatal risk factors and outcomes

Statistical analysis showed that an abnormal developmental outcomes were more frequent when researched risk factors, such as maternal age (giving birth at age 17 years/less and 35 years/over), pathologies of pregnancy and/or delivery, birth before 37 weeks of gestation, were exposed (OR-32.73, CI 95% - 7.75 to 138.28, z statistic - 4.75) as well, as correlation of these risk factors with neurodevelopmental adverse outcomes was significant (p<0.0001).

In sub-group of children with maternal age of 17-34YY there were less cases of neurodevelopmental abnormalities (PP-0.8% or 8 cases), than in the group with maternal age <17Y>35Y (PP-2.2% or 22 cases). Statistical analysis by chi-square test of independence revealed a significant correlation between maternal age and neurodevelopmental outcomes at age of 24 month (p<0.0001).

In sub-group of children with maternal pathologies of pregnancy there were more cases of neurodevelopmental disorders (PP – 2.1% or 21 cases) than in group of children who hadn’t been influenced by these maternal pathologies (PP – 0.9% or 9 cases). There was founded that occurrence of the adverse neurodevelopment in presence of maternal pathologies of pregnancy was significantly higher than in absence of its particular exposure at age of 24month (OR – 13.79 CI 95% - 6.19 to 30.71 p<0.0001).

Prevalence of abnormal development within sub-group of children with pathologies of delivery was 15 cases or 1.5% at age of 24 month. Exclusively higher rate of prevalence has been observed in children with a combined effect of other risk factors. However, performing chi-square test, the correlation of risks of pathological deliveries with neurodevelopmental outcomes was measured as significant at age of 24 month (OR-7.74 CI 95% - 3.69 to 16.26 p<0.001).

Table 1. Distribution of the neurological outcomes among groups at age of 24 month

Risk Groups	Total number (% from whole population) of infants	Number of infants with Abnormal Development	Point Prevalence (%) inside groups
I - Low Risk Group	715 (70.2%)	1	0.1%
II - Risk Group	215 (21.1%)	9	4.2%
III – High Risk Group	88 (8.7%)	20	22.7%

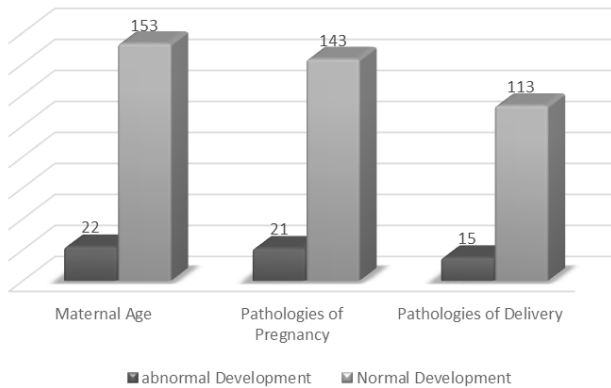


Fig. 1. Distribution of prevalence of outcomes according to single risk factors in whole population at age of 24 month

### 1.3 Correlations between neonatal pathologies and outcomes

74 (7.3%) of the children in whole population were born preterm, 48 (4.7%) and 23 (2.3%) of them had abnormal 6-month and 12-month neurodevelopmental scores respectively and then 11 of them (1.1%) again had 24-month developmental scores discrepancies. Compared with appropriate for gestational age children, small for gestational age children showed a significantly high risk of farther neurodevelopmental outcomes (OR – 29.30 CI 95% - 13.29 to 64.61  $P < 0.0001$ ) at age of 24 month.

Hypoxic-ischemic encephalopathy I –II stages of severity was observed in 29 cases or 2.8% from whole population of newborns in this research. Absence of risk factors exposure was 0.8% or 8 cases, the most prevalent risk factor for this neonatal pathology was maternal age  $<17Y>35Y$ . During a 24-month neurological survey, all of them were evaluated as children with normal development.

Sepsis with complication was diagnosed in neonatal period in 16 (1.6%) newborns, most of them (8 cases or 0.8%) were influenced by risk factors combination, such as pathologies of pregnancy and delivery as well as prematurity, none of the risk factors had been detected in 4 cases. However, children with this neonatal pathology showed some developmental impairments within 8 cases (in 1 case from 4 without described risk factors influence) at age of 24 month and it was clear, that the correlation of risks of neonatal sepsis with complication and combination with other risk factors with neurodevelopmental outcomes was measured as significant (OR- 5.0, CI 95% - 1.57 to 15.94  $p < 0.001$ ).

Nervous system pathologies of neonatal period, such as CNS malformation and intracranial hemorrhage, were identified in 7 cases (or 0.7%) and in 6 cases (or 0.6%), respectively. During a 24-month neurological survey, children with CNS malformation had already been evaluated as abnormal (7 cases from whole 7) and this neonatal risk factor had affected further development of children absolutely (OR – 69.83 CI 95% - 3.77 to 1292.67  $p < 0.0001$ );

on the other hand, there was not found strong correlation between intracranial hemorrhage I –II stages and neurodevelopmental outcomes (OR-1.78 CI 95% - 0.30 to 10.50  $p = 0.5$ ) at age of 24 month.

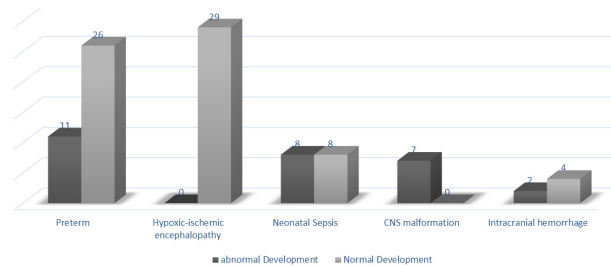


Fig. 2. Distribution of prevalence of outcomes according to neonatal pathologies in Group III at age of 24 month

Most neurodevelopmental impairments at an early age are associated with a life-long endurance and have a severe impact on normal brain functioning in adulthood [2,5]. The various adverse neurodevelopmental outcomes show similar features, including brain dysfunctioning (such as difficulties in sensor and motor systems, problems with speech and language) and a number of cognitive impairments (e.g. in learning and organizational skills) [5,6,9].

Our study has evaluated the prevalence of “abnormal neurodevelopmental outcomes” during 24 month of children’s life, equal to 2.9% in whole population. Literature exist a substantial difference in the prevalence of psychomotor development with the WHO standard [15]. Most of them identify 7-11% of children aged 6-23 months as having developmental delays, whereas the standard identifies  $<3%$ , as showed in our research [15]. For children aged 18–23 months, the differences in psycho-motor development essentially decrease as well as become clear the clinical features of neurodevelopment disorders and improve the methods of clinical assessment [5].

Prevalence of neurodevelopmental outcomes among children with neonatal pathologies, such as prematurity, low birth weight, cerebral palsy, epilepsy, neonatal sepsis, meningitis, intracranial hemorrhage etc., have studied in the majority of modern researches. In our study we divided III (High Risk) Group by detected neonatal pathologies, we had studied summarized value of prevalence for this group to compare with the values of the first two groups and as a result we have identified that the prevalence rate was significantly high (22.7% or 20 cases from 88) as well as correlations between each neonatal pathology and neurodevelopmental outcomes.

Multiple risk factors, including maternal prenatal risk factors and perinatal/neonatal pathologies, act during early development of a fetus and may contribute to the genesis of adverse neurodevelopmental outcomes [1]. In several studies are described that maternal prenatal features, such as adverse maternal age [10] and risk factors affected child development during prenatal, perinatal and postnatal

periods [8] have been correlated with several typically unobserved or inadequately measured characteristics that are relevant for fetal/child health and are identifying as a minor delay in normal development of the psycho-motor sphere.

We found correlations between neurodevelopmental adversities of children, which usually appeared during the 24 month of life, and four separate risk factors, such as maternal age (<17Y>35Y), maternal pathological pregnancy, maternal pathological delivery and gestation age.

Authors noted, that advanced maternal age ( $\geq 35$ ) is related to greater risk for adverse birth outcomes and farther development of children compared to younger women [7,10]. The effect of maternal age on risk of children's development was confirmed in our research too, where the association between them was defined as very significant ( $p < 0.0001$ ).

Pathological pregnancy and delivery are also already known as a significant risk factor from other studies [3,6,12]. The absolute risks of perinatal mortality, fetal neurologic morbidity was about two- to five-fold higher in the pathological delivery group than in the planned vaginal delivery group [3]. Using age-appropriate intelligence scales, the authors found statistically significant difference in the intelligent quotients of children born with pathological pregnancy, such as with perinatal infections asymptomatic at birth and children without them [4]. According to Morrison J. [8] children with these infections by age 2 were found to have scores that were 7 points lower compared to the controls ( $p < 0.05$ ). Similarly, children from our study population had lower neurodevelopmental scores compared to children with normal development dependent of maternal health status, such as normal progress of pregnancy and delivery and associated with them neonatal pathologies, such as neonatal sepsis. We had identified specific neonatal pathologies and we had found that the presence of any pathology is associated with the adverse neurodevelopment of children and more significant correlation is defined in cases of neonatal sepsis with complications (OR- 5.0,  $p < 0.001$ ) and CNS malformation (OR – 69.83,  $p < 0.0001$ ).

Gestational age is most researched and probable risk factor for neurodevelopmental disorders in children today [12]. The proportion of children at risk of developmental delay is high for children born at 32-34 week's gestation, which raises the question of including these children in follow-up. In French population based cohort of preterm neonates, Pierrat V. et al. [11] showed that there was a statistically important decrease in the rate of cerebral palsy but the risk of developmental delay was high, even in children born moderately preterm.

Von Beckerath AK et al. [14] also confirm that small for gestational age infants are subject to an increased risk for adverse short- and long-term outcome compared with appropriate for gestational age infants and these long-term outcomes were affected by increased risk for neurodevelopmental impairment (24.7% vs 5.6%; OR, 5.5) and growth delay (21.2% vs 7.4%; OR, 3.4).

As a result of a short-term, 24 months observation, we

revealed that gestation age is strongly associated (OR-29.30,  $P < 0.0001$ ) with lower scores on neurodevelopmental outcomes compared to other risk factors.

**Conclusion.** The most significant single risk factor for abnormal neurodevelopmental outcome was gestation age, maternal age and pathologies of pregnancy. High frequency of neurodevelopmental adverse outcomes was correlated with combined impact of risk factors and neonatal disorders, especially neonatal sepsis with complication and CNS malformation.

## REFERENCES

1. Ahmad KA et al. Two-Year Neurodevelopmental Outcome of an Infant Born at 21 Weeks' 4 Days' Gestation // *Pediatrics*. 2017 Dec;140(6):83-86.
2. Belfort M. B. et al. Infant Growth and Child Cognition at 3 Years of Age // *Pediatrics*. 2008 Sep; 122(3): e689–e695.
3. Berhan Y, Haileamlak A. The risks of planned vaginal breech delivery versus planned caesarean section for term breech birth: a meta-analysis including observational studies. // *BJOG*. 2016 Jan;123(1):49-57.
4. Boppana SB., Fowler KB. Insight Into Long-term Neurodevelopmental Outcomes in Asymptomatic Congenital CMV Infection // *Pediatrics*. 2017 Nov;140(5). pii: e20172526.
5. Buluş A.D., Tiftik E. Evaluation of neurodevelopment of children with congenital hypothyroidism by the Denver Developmental Screening Test // *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017 Oct 26;30(10):1061-1066.
6. Macharey G. et al. Neurodevelopmental outcome at the age of 4 years according to the Planned Mode of Delivery in Term Breech Presentation: a Nationwide, Population-Based Record Linkage Study // *Journal of Perinatal Medicine* 2018; 46 (3), 323-331.
7. Merikangas AK et al. Parental Age and Offspring Psychopathology in the Philadelphia Neurodevelopmental Cohort // *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2017 May;56(5):391-400.
8. Morrison J. Congenital CMV, IQs, and Academic Achievement: Where Do We Go From Here? // *Pediatrics*. October 2017. <http://www.aappublications.org>
9. Noritz GH. Motor Delays: Early Identification and Evaluation // *Pediatrics*. June 2013, VOLUME 131 / ISSUE 6.
10. Ogawa K. et al. Association between very advanced maternal age and adverse pregnancy outcomes: a cross sectional Japanese study // *BMC Pregnancy Childbirth*. 2017; 17: 349.
11. Pierrat V. et al. Neurodevelopmental outcome at 2 years for preterm children born at 22 to 34 weeks' gestation in France in 2011: EPIPAGE-2 cohort study // *BMJ* 2017;358:j3448
12. Putnick DL, Bornstein MH, Eryigit-Madzgamuse S, Wolke D. Long-Term stability of language performance in very preterm, moderate-late preterm, and term children // *J Pediatr* 2017;181:74-79.
13. Rastogi MV, and Stephen H LaFranchi. Congenital Hypothyroidism. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2010; 5: 17.
14. Von Beckerath AK et al. Perinatal complications and long-term neurodevelopmental outcome of infants with intrauterine growth restriction // *Am J Obstet Gynecol*. 2013; 208(2):130.e1-6.

15. World Health Organization. WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006.

## SUMMARY

### CORRELATION BETWEEN PERINATAL RISK FACTORS AND NEURODEVELOPMENTAL OUTCOMES IN CHILDREN AT 24 MONTHS OF AGE

<sup>2</sup>Tskimanauri N., <sup>1</sup>Khachapuridze N., <sup>3</sup>Imnadze P., <sup>2</sup>Chanadiri T., <sup>1</sup>Bakhtadze S.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University; <sup>2</sup>Neurological Clinic LTD "Valeo", Tbilisi; <sup>3</sup>I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia

The purpose of this research was to investigate the developmental follow-up of children of 24 months age, exposed to separate and combination impact of perinatal risk factors, compared with not exposed cases, within the prospective cohort study. Between January 2017 and January 2018, was conducted final stage of research, where were participated the medical centers in Tbilisi (capital of Republic of Georgia) and Mtskheta, Dusheti (districts of Georgia). Within postnatal follow-up, the children from whole population were assessed at 24 month of age by family doctors using the Denver Developmental Screening Test (Denver II). The association between the risk factors and neurodevelopmental outcomes was analyzed by Chi-square test of independence. Statistical analysis of these data was performed using the SPSS version 12.0.1 (SPSS Inc., Chicago, IL). A P value of less than 0.01 was considered as significant.

Prevalence of abnormal development in whole population was revealed 2.9% or 30 cases at age of 24 month. Statistical analysis showed that an abnormal developmental outcomes were more frequent when researched risk factors, such as maternal age  $<17>35$ YY (OR-22.17, CI 95% - 8.91 to 55.15), pathologies of pregnancy (OR-13.79 CI 95% - 6.19 to 30.71) and/or delivery (OR -7.74 CI 95% - 3.69 to 16.26), birth before 37 weeks of gestation (OR-29.30 CI 95% - 13.29 to 64.61), were exposed as well, as correlation of these risk factors with neurodevelopmental adverse outcomes was significant ( $p<0.0001$ ).

Neonatal pathologies, such as gestation age, neonatal sepsis with complication and combination with other risk factors and CNS malformation, combined with some perinatal risk factors were correlated strongly with adverse neurological disorders ( $p<0.0001$ ) at age of 24 month. There was less significant correlation between Hypoxic-ischemic encephalopathy I-II stage of severity, as well as intracranial hemorrhage of I-II stages and neurodevelopmental outcomes ( $p<0.05$ ).

The most significant single risk factor for abnormal neurodevelopmental outcome was gestation age, mater-

nal age and pathologies of pregnancy. High frequency of neurodevelopmental adverse outcomes were correlated with combined impact of risk factors and neonatal disorders, especially neonatal sepsis with complication and CNS malformation.

**Keywords:** perinatal risk factors, Denver Developmental Screening Test, children.

## РЕЗЮМЕ

### КОРРЕЛЯЦИЯ ФАКТОРОВ ПЕРИНАТАЛЬНОГО РИСКА С НЕЙРОПСИХИЧЕСКИМ РАЗВИТИЕМ ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ 24 МЕСЯЦЕВ

<sup>2</sup>Цкиманаури Н.В., <sup>1</sup>Хачапуридзе Н.С., <sup>3</sup>Имнадзе П.Г., <sup>2</sup>Чанадири Т.В., <sup>1</sup>Бахтадзе С.З.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет; <sup>2</sup>Неврологическая клиника «Валео», Тбилиси; <sup>3</sup>Тбилисский государственный университет им. Ив. Джавахишвили, Грузия

Целью исследования явилось определение зависимости между одиночным и комбинированным воздействием на детей некоторых перинатальных факторов риска и их последующим нейро-психическим развитием в возрасте 24 месяцев.

Проведено проспективное когортное исследование детей в возрасте 24 месяцев с января 2017 г. по январь 2018 г. В исследование включено 1018 младенцев, неврологическое обследование и оценка развития которых проведены в районных медицинских центрах г. Тбилиси, Мцхета и Душети по скрининг-тесту Денвера (Денвер II). Корреляция между степенью воздействия факторов риска и результатами психо-моторного развития исследуемых детей проанализирована методом вычисления Odds Ratio и по критерию Chi-square test. Статистический анализ полученных данных проведен с использованием SPSS v. 12.0.1. Достоверным считалось значение  $p$  менее 0,01.

Задержка развития у детей в возрасте 24 месяцев в рамках исследуемой популяции выявлена в 30 (2,9%) случаях. Статистический анализ показал, что неблагоприятные результаты развития чаще обнаруживаются у детей, находящихся под воздействием таких перинатальных факторов риска как возраст матери во время беременности  $<17>35$  лет (OR-22.17, CI 95% - 8.91 to 55.15), патологии беременности (OR-13.79 CI 95% - 6.19 to 30.71) и родов (OR -7.74 CI 95% - 3.69 to 16.26), преждевременное родоразрешение (до 37 недель беременности) (OR-29.30 CI 95% - 13.29 to 64.61).

Неонатальные патологии (недоношенность, неонатальный сепсис с осложнениями в комбинации с другими риск-факторами, мальформация ЦНС) в сочетании с некоторыми перинатальными факторами риска влияют на исход развития детей в возрасте 24 месяцев



( $p < 0,0001$ ). С другой стороны, влияние некоторых неонатальных состояний (гипоксически-ишемическая энцефалопатия лёгкой и средней тяжести, внутричерепное кровоизлияние I-II степени) - незначительно ( $p < 0,05$ ).

Наиболее значительными перинатальными факторами риска, вызывающими задержки развития нервной системы у 24-месячных детей являются недоношенность, возраст матери и наличие патологий при беременности. Развитие нервной системы у детей находится в тесной взаимосвязи с заболеваемостью в неонатальном периоде.

## რეზიუმე

პერინატალურ რისკ-ფაქტორებსა და ნეიროგანვითარებას შორის კორელაცია 24 თვის ასაკის ბავშვებში

ზნ. ცქიძანაური, <sup>1</sup>ნ. ხაჭაპურიძე, <sup>3</sup>პ. იმნაძე,  
<sup>2</sup>თ. ჩანადირი, <sup>1</sup>ს. ბახტაძე

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ნევროლოგიური კლინიკა შპს „ვალეო“, თბილისი; <sup>3</sup>ივ. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა 24 თვის ასაკის ბავშვებში ნეიროგანვითარების შეფასება, განვითარების გამოვლენილ დარღვევებსა და პერინატალური რისკ-ფაქტორების ერთეულ და კომბინირებულ ზემოქმედებას შორის კორელაციური კავშირის დადგენა.

პროსპექტული კოჰორტული კვლევა ჩატარდა 2017 წ. იანვრიდან 2018 წ. იანვრამდე ქ. თბილისის, მცხეთისა და დუშეთის პირველადი ჯანდაცვის ცენტრებში. კვლევაში ჩართული იყო 1018 ბავშვი, რომელთა ნეიროგანვითარების შეფასება ჩატარდა 24 თვის ასაკში დენვერის სკალის გამოყენებით.

პერინატალურ რისკ-ფაქტორებსა და ბავშვებში გამოვლენილ ნევროლოგიური განვითარების დარღვევებს შორის კავშირების დადგენის მიზნით განსაზღვრული იყო შანსების თანა-

ფარდობის მაჩვენებლები (OR), მონაცემების შეფასება განხორციელდა Chi-square test მეთოდის გამოყენებით. მიღებული მონაცემები სტატისტიკურად დამუშავებული იყო SPSS v12.0.1 პროგრამაში. სარწმუნოდ მიღებული იყო  $p$  მაჩვენებლის 0.01-ზე ნაკლები მნიშვნელობა.

24 თვის ასაკის ბავშვების მთლიან პოპულაციაში ნერვული სისტემის განვითარების შეფერხება გამოვლინდა 30 (2.9%) შემთხვევაში.

სტატისტიკურმა ანალიზმა გამოავლინა, რომ ბავშვებში ნერვული სისტემის განვითარების შეფერხებათა სიხშირე იზრდება პერინატალური რისკ-ფაქტორების ზეგავლენით - დედის ასაკი ორსულობისას  $< 17 > 35$  წწ (OR-22.17, CI 95% - 8.91 to 55.15), ორსულობისა (OR-13.79 CI 95% - 6.19 to 30.71) და მშობიარობის (OR -7.74 CI 95% - 3.69 to 16.26) პათოლოგიები, გესტაციის ასაკი (OR-29.30 CI 95% - 13.29 to 64.61). კორელაციური კავშირი ამ ცვლადებს შორის შესაძლოა შეფასდეს, როგორც მნიშვნელოვანი ( $p < 0.0001$ ).

ნეონატალური პათოლოგიები (დღენაკლულობა, ნეონატალური სეფსისი გართულებებით სხვა რისკ-ფაქტორებთან კომბინაციაში და ცნს მალფორმაცია) მნიშვნელოვნად განაპირობებს 24 თვის ასაკის ბავშვებში ნეიროგანვითარების შეფერხების ჩამოყალიბებას ( $p < 0.0001$ ). ცალკეულ ნეონატალურ პათოლოგიას, კერძოდ მსუბუქ და საშუალო სიმძიმის პიპოქსიურ-იშემიურ ენცეფალოპათიას, I და II ხარისხის ქლაშიდა სისხლჩაქცევებს და ბავშვების განვითარების დონეს შორის კორელაციური კავშირი შეფასდა, როგორც ნაკლებმნიშვნელოვანი ( $p < 0.05$ ).

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ 24 თვის ასაკის ბავშვებში განვითარების შეფერხების ჩამოყალიბებაზე ყველაზე მნიშვნელოვან ზეგავლენას ახდენს პერინატალური რისკ-ფაქტორების (დღენაკლულობა, დედის ასაკი და ორსულობის პათოლოგიები) ზემოქმედება. ნეონატალურ პერიოდში განვითარებული პათოლოგიები, კერძოდ სეფსისი გართულებებით და სხვა რისკ-ფაქტორებთან კომბინაციაში, ცნს მალფორმაცია განსაკუთრებულად მჭიდრო კორელაციაშია ნერვული სისტემის განვითარების დარღვევებთან.

## HEALTH OF CHILDREN UNDER 12 MONTHS OF AGE IN GEORGIA

<sup>1</sup>Jincharadze N., <sup>2</sup>Kazakhstanvili N., <sup>3</sup>Sakvarelidze I., <sup>4</sup>Gerzmava O.

<sup>1</sup>University of Georgia, School of Public Health; <sup>2</sup>Tbilisi State University;  
<sup>3</sup>Tbilisi Humanitarian Teaching University; <sup>4</sup>University of Grigol Robakidze, Tbilisi, Georgia

Health status of young population is one of the main indicators of the socio-economic development of the country and their reduction is most important problem for health care system. of public health in Georgia [3].

Despite improvement of the socio-economic situation, scientific discoveries in medicine, many progressive health care reforms in the last 25 years population of Georgia has decreased to 1,5 million. Main reasons of that situation is reduction of fertility rate, intensive migration processes and other socio-economic and demographic reasons [7].

Decreasing of birth rate and number of children in Georgia is main issue for governmental institutions and country politic makers. This issue is also important for demographer, health professionals, psychologists, sociologists.

According to the experts of the United Nations, World Bank and the U.S. Census Bureau, reproductive potential in Georgia will decrease by 2050 year, and demographic situation will be worse [7,8]. Because the challenges in Georgia vector of the 2017-2030 National Strategy for Promotion of Maternal and Newborn Health is aimed to improving the health of newborns [3].

Georgian women reproductive health research, which was conducted in 2005 shown, that the rate of stillbirth was high (16/1,000) in 2000-2005. Most cases of the stillbirth was among women, who have not received prenatal care (37,3/1,000), who had a complicated pregnancy (44,6/1,000) [5].

Reproductive health research, which was conducted in 2010 shown, that the stillbirth rate has decreased (8/1,000) in 2005-2010. Most cases of the stillbirth have been reported among women, who have not received prenatal care services (50/1,000) who have complicated pregnancy (34/1,000) or prolonged childbirth period (30/1,000) [6]. Generally, neonatal mortality is caused by neonatal mortality (15.4%), various problems connected with childbirth process (14.9) on infections (7%) [12,13].

It is possible to prevent 71% of annual neonatal mortality, 33% of stillbirth and 54% of maternal mortality by the improving prenatal, antenatal, perinatal, and postnatal medical care [10].

According to international experts, each 1 \$ spent on reproductive health services reduces the cost of related to pregnancy and childbirth by 2\$. And every 1 \$ spent on prenatal surveillance reduces the costs connected with problems while childbirth by 3 \$. Qualities of antenatal care and before pregnancy care have a great influence on both the mother and the fetus's health.

Researches which were made during various years (1999-2010) in Georgia show that the highest risk of death

comes on the first month of life. Main reason newborn death in most cases is premature delivery, hypoxia and infections of the fetus. Deaths can be reduced by quality medical care during pregnancy, safe delivery and high quality medical intervention in the perinatal period [5,6].

Globally, the statistic of neonatal mortality is 45% of children under the age of 0-5 years. In 2016, this statistic was 58, 9% in Georgia [4].

The aim of this work is to study the trends of child health in Georgia.

**Material and methods.** Methodological basis of this research is the qualitative research: method of cabinet research ("Desk Research"). Also was used gathering, descriptive, systematization, comparison, analysis, interpretation of statistical dates. The detailed information on child health indicators were taken from the National Center for Disease Control and Public Health, National Statistics Office of Georgia.

There have been studied following indicator: the dynamics of birth, mortality and morbidity of children under the age of 0-1, neonatal mortality, early neonatal mortality, late neonatal mortality, prenatal mortality, stillbirth.

For studying the legal basis, we used Regulations of the Government of Georgia and normative acts of the Ministry of Labor, Health and Social Protection.

**Results and their discussion.** According to the records of Bureau of Census population of Georgia in 1996 was 4 674,5 thousand, in 2017 year population of Georgia was 3 718,2 thousand. One of the reasons for decreasing population was decreasing the birth rate.

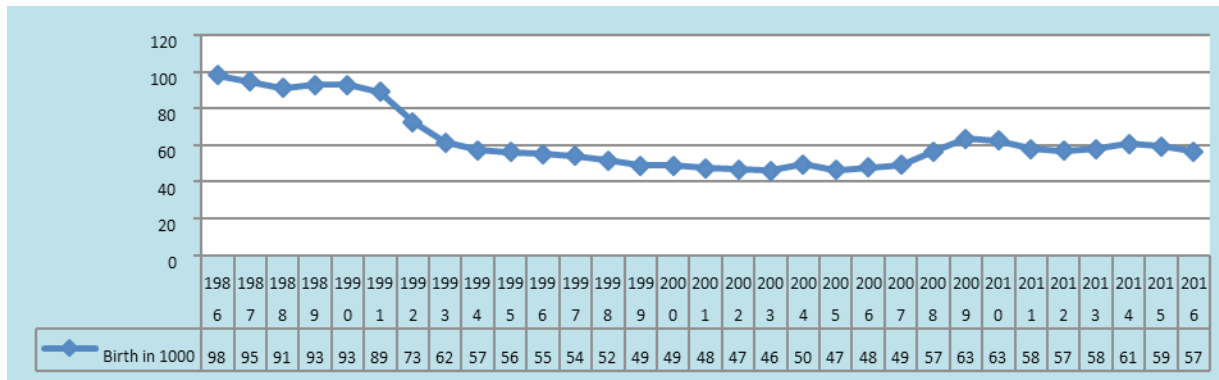
By Study of birth rates indicators in Georgia and comparison we made following conclusions: The status of the country of transition economy (1990-1994), socio-economic and political cataclysms caused by the historical realities of Georgia have directly reflected on the birth rate. According to the literature, in 1986 the birth rate was 98 155 (the absolute number), ten years later in 1996 was -55 000 and in 2016 year -56569 (Pic. 1).

In the 90 s of the last century, the population of Georgia and reproduction was reducing. After the war in Abkhazia, Social economic situation of country worsened and this was the main reason for decreasing population.

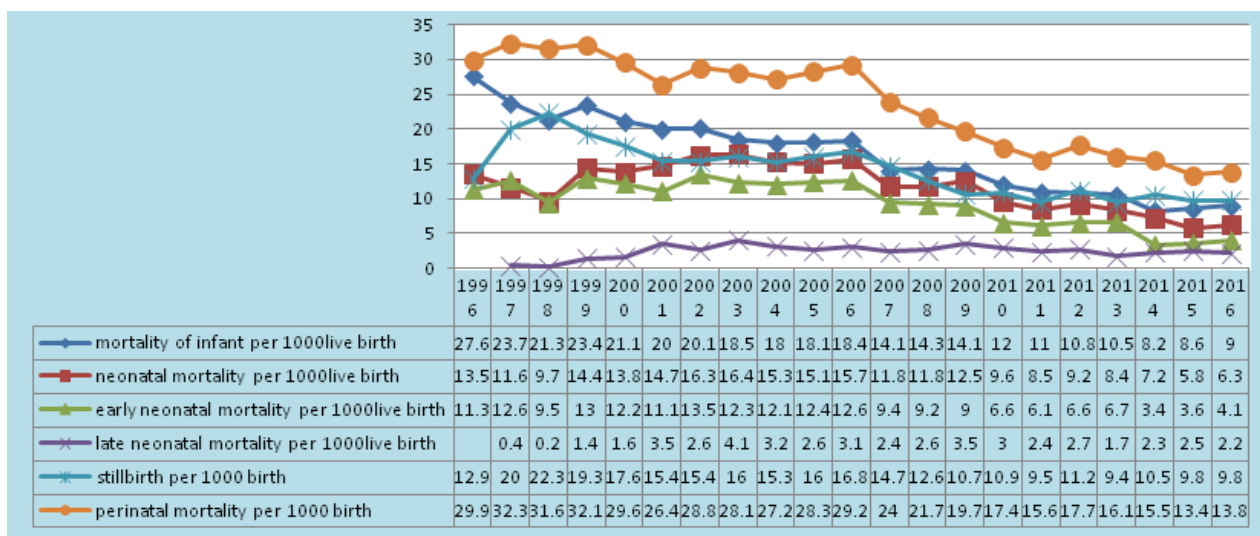
According to the history, we can divide the childbirth statistic into two phase:

1. 1998-1990 years, this was the period of national movement in Georgia, during this time, childbirth was increasing.

2. In 2008 year, patriarch of Georgia, Ilia II, announced christening of every 3<sup>rd</sup> baby of family [7].



Source: Geostatic  
Pic. 1. Birth 1986-2016 (in 1000)



Source: NCDC  
Pic. 2. Mortality of children under one year (1996-2016)

According to the researches, in the last twenty years, from 1996 to 2016, the death rate (per 1000 live birth) of 0-1 year old has decreased from 27.6 to 9 in Georgia. The neonatal death rate was reduced from 13.5 to 6.3 and the early neonatal mortality rate was reduced from 12.6 to 4.1. In the process of improving this indicators, Late neonatal mortality rate has increased by 5 times from 0.4 to 2.2 (Pic. 2).

The reduction infant's mortality, neonatal and early neonatal mortality, was caused by the implementation of programs in the country, which was achieved through a joint work of local specialists and international organizations. The causes of growth the late neonatal mortality should be explained by the shortage of medical conditions management in the postnatal period.

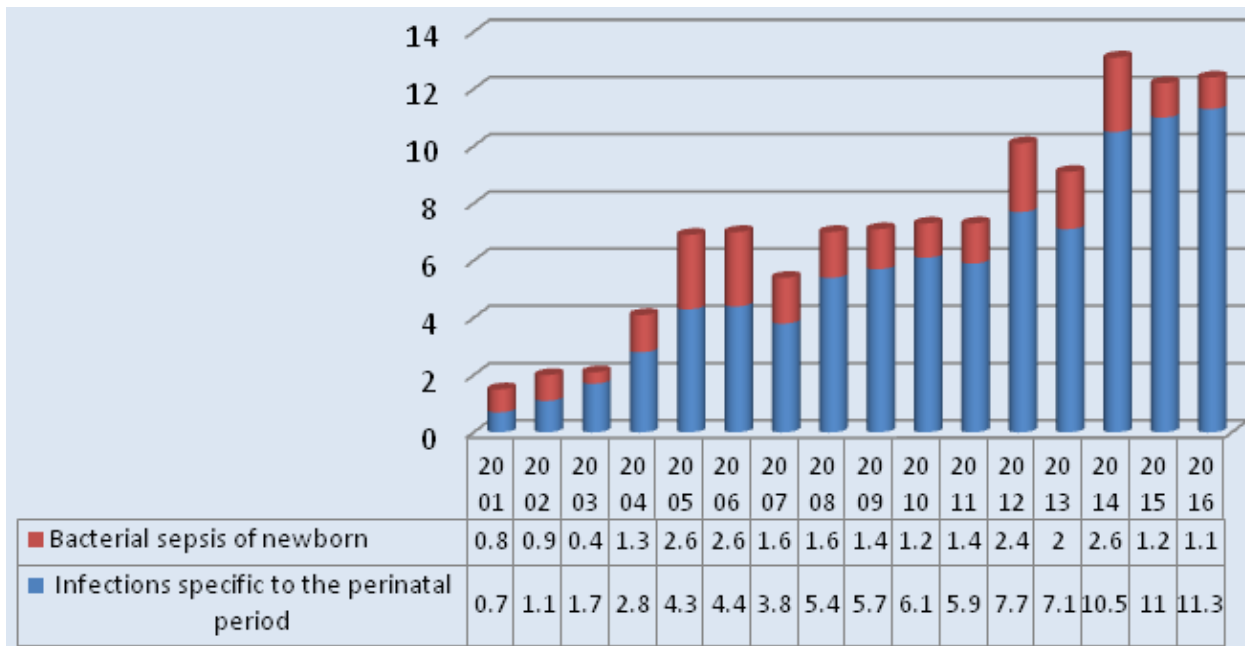
According to the statistic the perinatal mortality rate (per 1000 birth) from 1996 to 2016 in Georgia has decreased from 28.9 to 13.8. But in 2015-2016 was increased from 13.4 to 13.8. The worse situation is in the stillbirth, that has decreased during last 20 years very little, from 12.9 to 9.8 and in recent years there is no decreasing tendency (Pic. 2).

Research has shown that the ratio of stillbirth with early neonatal mortality is increasing. In 2016 it was 2.4, which is twice as high as the WHO recommended (1.2) for Georgia [15].

The statistic of perinatal mortality rate and stillbirth rate can be explained by two main reasons: a) detecting problems, diseases late; b) potential risks are not prevented while antenatal period.

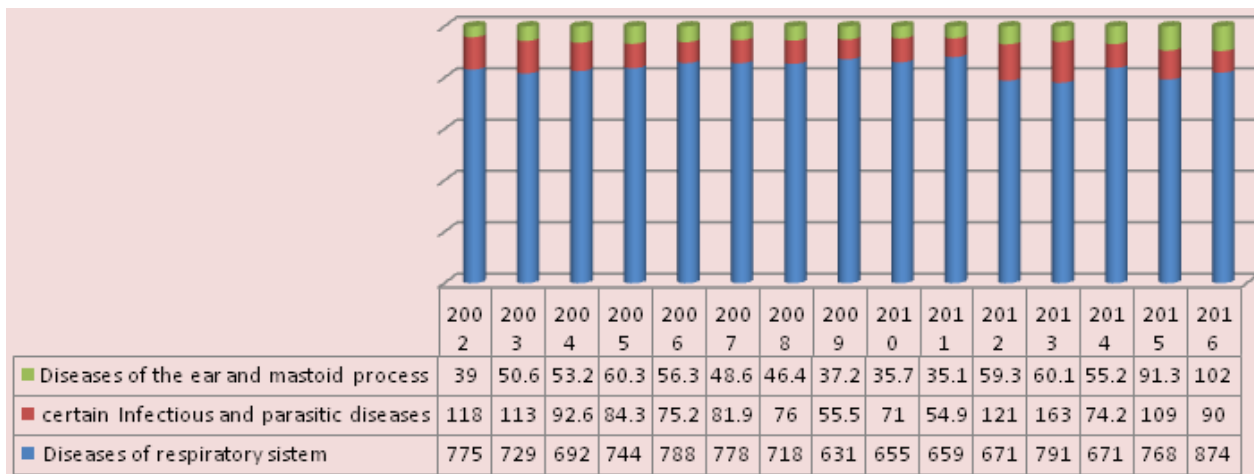
According to the statistic, newborn's morbidity in 2002-2016 years has increased (per 1000 child) incidence of following diseases: "Infections specific to the perinatal period" from 0,7 to 11,3 and "Bacterial sepsis of newborn" from 0,8 to 1,1. According to this statistic, we may think that early identification of urinary tract infections and other infections in pregnant women is not happen, by the inadequate quality during antenatal care (Pic. 3).

The main reason of child deaths while 0-1 age is: "Certain conditions originating in the perinatal period" (630.2/100000) and "Congenital malformations, deformations and chromosomal abnormalities" (116.3/100000). The child mortality at age 0-1 is explained by the inadequate medical quality of management the antenatal and perinatal period.



Source: NCDC

Pic. 3. Incidence of infections in newborns (maternity house date)



Source: NCDC

Pic. 4. Incidence of most frequent diseases in children under the age 1 year per 1000 child

We studied incident of the most common diseases of 0-1 age children .Was discovered three major diseases: “Diseases of the respiratory system” (873.8/1000),”Diseases of the ear and mastoid process” (102.2/1000),”Certain infectious and parasitic diseases” (90/1000) (Pic. 4).

Increasing morbidity rates of 0-1 age children can be partially explained by implementing universal health care program. Medical services for children are more available because of this program.

So, in 1988-1990, birth rate increased in Georgia. It was time when the leader of National movement Zviad Gamsakhurdia announced about demographic problems and asked Georgians to help the country. Birth rate was also increased in 2008, when Patriarch of Georgia Ilia II expressed good will for christening of every 3rd baby in family. We can think that the Reproductive behavior of

the population is more sensitive to religious and national issues than to material incentives. In Georgia in 1996-2016 years mortality of 0-1 age children was decreased from 23.7 to 9, nearly by 2.6 times. On the other hand, neonatal death was decreased from 13.5 to 6.3 nearly by 2 times. Despite that the both indicators are significantly higher than the same indicators of European countries. The rate of stillbirth (9.8) and rate of perinatal mortality (13.8) is critically higher for us, because Georgia is a small country with few populations. Since 1996 the government of Georgia has implemented “Mothers and Child health care program” (early named „Healthy children and safe motherhood program“). This program is ensuring free antenatal care service. According to the program, medical services become more available for mothers and children. Despite that, the outcomes and statistics of pregnancy are not good.



In order to improve the situation, it is recommended to improve the quality of antenatal care, implement organizational changes in maternal and child health systems and raising qualification of doctors.

## REFERENCES

1. გერზმავა ო., „საზოგადოებრივი ჯანდაცვა და მენეჯმენტი“. მეცხრე შესწორებული გამოცემა ISBN 978-99-41-0-4436 გვ.1-583. თბილისი. 2017.
2. ვერულავა თ., „სამედიცინო დახმარების ანაზღაურების მეთოდების კომპლექსური შეფასება“. დისერტაცია. თსუ. გვ.1-129. თბილისი. 1999.
3. საქართველოს დედათა და ახალშობილთა ჯანმრთელობის ხელშეწყობის 2017-2030 წლების ეროვნული სტრატეგიისა და მისი განხორციელების 2017-2019 წლების სამოქმედო გეგმის დამტკიცების თაობაზე საქართველოს მთავრობის დადგენილება №459, 2017 წლის 6 ოქტომბერი <https://matsne.gov.ge/ka/document/download/3825285/0/ge/pdf>
4. სტატისტიკური ცნობარი. ჯანმრთელობის დაცვა, დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრის კრებული. თბილისი. გვ.1-155. 2016. [www.ncdc.ge](http://www.ncdc.ge)
5. ქალთა რეპროდუქციული ჯანმრთელობის კვლევა საქართველოში, გვ.1-420., თბილისი., 2005. საბოლოო ანგარიში. ISBN: 978-9941-0-0014-0
6. ქალთა რეპროდუქციული ჯანმრთელობის კვლევა საქართველოში 2010.. თბილისი. 2012. გვ. 1-393., საბოლოო ანგარიში ISBN: 978-9941-0-4905-7
7. წულაძე, გ. სულაბერიძე, ა. საქართველოს რეგიონების დემოგრაფიული თავისებურებანი. გვ.1-90., <https://iliauni.edu.ge/uploads/other/39/39663.pdf>
8. წულაძე, გ. საქართველოს დემოგრაფიული პერსპექტივები: 2015-2300 წლები. დემოგრაფიის და სოციოლოგიის პრობლემები. შრომების კრებული. ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი. ISBN 978-9941-0-7481-3. თბილისი. 2015. გვ.1-136.,
9. ჯანმრთელობის დაცვა. მოკლე მიმოხილვა. დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრის კრებული. გვ. 1-44. თბილისი. 2016.
10. Bhutta ZA, Das JK, Bahl R, Lawn JE, Salam RA, Paul VK. et al. Can available interventions end preventable deaths in mothers, newborn babies, and stillbirths, and at what cost? Lancet. 2014 Jul 26;384 (9940):347-70.
11. Child Mortality Levels & Trends in Child Mortality. Report. WHO. 2017. P. 1-40.  
Copyright © 2017 by the United Nations Children's Fund  
[https://www.unicef.org/publications/files/Child\\_Mortality\\_Report\\_2017.pdf](https://www.unicef.org/publications/files/Child_Mortality_Report_2017.pdf)
12. Lawn JE, Kinney MV, Black RE, Pitt C, Cousens S, Kerber K, Corbett E, Moran AC, Morrissey CS. Newborn survival: a multi-country analysis of a decade of change. Health Policy Plan. 2013;28 (7):786-8.

13. Lawn, J.E., Blencowe, H., Oza, S., et al. (2014) Every Newborn: Progress, Priorities, and Potential beyond Survival. Lancet, 384, 189-205.

14. Trends in health systems in the former Soviet countries. The European Observatory on Health Systems and Policies .Edited by Bernd Rechel Erica Richardson Martin McKee. Printed in the United Kingdom . 2014. p. 1-238.

15. Verulava T., Kalandadze T. Health Care System In Georgia. First edition. State Medical Insurance Company of Georgia. Tbilisi. 2001. p.1-294. ISBN 99928-0-219-7.

## SUMMARY

### HEALTH OF CHILDREN UNDER 12 MONTHS OF AGE IN GEORGIA

<sup>1</sup>Jincharadze N., <sup>2</sup>Kazakhstanvili N., <sup>3</sup>Sakvarelidze I., <sup>4</sup>Gerzmava O.

<sup>1</sup>University of Georgia, School of Public Health; <sup>2</sup>Tbilisi State University; <sup>3</sup>Tbilisi Humanitarian Teaching University; <sup>4</sup>University of Grigol Robakidze, Tbilisi, Georgia

The main goal of this study is to determine trends in the field of health of children under the age of 1 in Georgia.

Methodological basis of this research is the qualitative research, method of cabinet research (“Desk Research”), it was used gathering, descriptive, systematization, comparison, analysis, interpretation of statistical dates. The date on child health indicators were taken from the National Center for Disease Control and Public Health, National Statistics Office of Georgia. The following indicators have been studied: the dynamics of birth, Mortality and Morbidity of children under the age of 0-1, neonatal mortality, early neonatal mortality, late neonatal mortality, perinatal mortality, stillbirth. For studying the legal basis, we used Regulations of the Government of Georgia and normative acts of the Ministry of Labor, Health and Social Protection.

0-1 years old Child mortality, perinatal, neonatal, early neonatal mortality rates was decreased. The rate of late neonatal mortality, stillbirth, perinatal mortality and ratio of stillbirth with early neonatal mortality was increased. Incidence of “Infections specific to the perinatal period” and “Bacterial sepsis of newborn” was increased. Among the reasons of 0-1 year’s old child mortality was increased “Certain conditions originating in the perinatal period” and “Congenital malformations, deformations and chromosomal abnormalitis”.

Among the reasons of 0-1 year’s child morbidity was increased “Diseases of the respiratory system”, “Diseases of the ear and mastoid process”, “Certain infectious and parasitic diseases”.

High rates of late neonatal mortality, perinatal mortality and stillbirth, increasing incidence of “Infections specific to the perinatal period” and “Bacterial sepsis of newborn”, indicates that the quality of antenatal care does

not fit to the international standard, The risks of fetus and pregnant woman are not identified and prevented timely, Infections are not diagnosed timely. Because of the delayed identification, prevention and treatment is not adequate.

**Keywords:** Antenatal care, neonatal mortality, still-birth, perinatal mortality.

## РЕЗЮМЕ

### СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ ДО 12 МЕСЯЦЕВ В ГРУЗИИ

<sup>1</sup>Джинчарадзе Н.Г., <sup>2</sup>Казахашвили Н.А.,  
<sup>3</sup>Сакварелидзе И.В., <sup>4</sup>Герзмава О.Х.

<sup>1</sup>Университет Грузии, Школа общественного здравоохранения; <sup>2</sup>Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили; <sup>3</sup>Тбилисский гуманитарный учебный университет; <sup>4</sup>Университет им. Григола Робакидзе, Тбилиси, Грузия

Целью исследования явилось определение тенденций показателей здоровья у детей в возрасте до 12 месяцев в Грузии.

Методологической основой является качественное исследование, т.н. метод „кабинетного исследования“ (desk research): сбор вторичных статистических данных, их описание и систематизация, сравнение, анализ, интерпретация.

Изучены индикаторы здоровья детей. Данные показателей здоровья у детей заимствованы из Национального центра по контролю заболеваний и общественного здравоохранения, Национального статистического управления Грузии. Проанализирована динамика следующих индикаторов: детская смертность и заболеваемость в возрасте до 1 года, неонатальная смертность, ранняя неонатальная смертность, поздняя неонатальная смертность, перинатальная смертность, мертворождаемость. Для изучения законодательной базы использованы постановления и нормативные акты Министерства труда, здравоохранения и социальной поддержки Грузии.

По данным 2016 г. выявлено снижение показателей смертности детей в возрасте 0-1 года, в том числе неонатальной и ранней неонатальной смертности в сравнении с 1996 г., хотя они остаются выше таковых в европейских странах. Выявлена тенденция роста поздней неонатальной смертности, перинатальной смертности и мертворождаемости.

Согласно материалам Международной классификации болезней и причин смерти 8-го пересмотра МКБ-8, в структуре заболеваемости детей в возрасте до года наблюдается рост показателей в разделе инфекционные болезни, специфичные для перинатального периода, особенно в группе бактериальный сепсис новорожденного, а в структуре смертности у детей

в возрасте 1 года преобладают заболевания, относящиеся к группам отдельных состояний, возникающих в перинатальном периоде, и врожденные аномалии (пороки развития, деформации и хромосомные нарушения). Увеличилась доля заболеваний, входящих в раздел болезни органов дыхания, болезни уха и сосцевидного отростка, некоторые инфекционные и паразитарные болезни.

Результаты проведенного исследования подтверждают, что причиной высокого уровня как мертворождаемости, так и поздней неонатальной и перинатальной смертности является учащение случаев плохо пролеченных инфекций, специфичных для перинатального периода. Основной проблемой остается несоответствие стандарту качества организации дородового наблюдения за беременными. Недостаточно активна работа врачей акушеров-гинекологов по своевременному выявлению факторов риска у беременных, что ведет к поздней идентификации дородовой и послеродовой инфекций и как следствие - запоздалому лечению.

Авторами статьи представлены практические рекомендации по оптимизации ситуации, связанной с высоким уровнем заболеваемости и смертности среди детей до одного года.

## რეზიუმე

12 თვემდე ასაკის ბავშვთა ჯანმრთელობის მდგომარეობა საქართველოში

<sup>1</sup>ნ. ჯინჭარაძე, <sup>2</sup>ნ. ყაზახაშვილი, <sup>3</sup>ი. საყვარელიძე,  
<sup>4</sup>ო. გერზმავა

<sup>1</sup>საქართველოს უნივერსიტეტი, საზოგადოებრივი ჯანდაცვის სკოლა; <sup>2</sup>თბილისის ივ. ჯავახიშვილის სახ. სახელმწიფო უნივერსიტეტი; <sup>3</sup>თბილისის ჰუმანიტარული უნივერსიტეტი; <sup>4</sup>გ. რობაქიძის სახ. უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენს 12 თვემდე ასაკის ბავშვთა ჯანმრთელობის მდგომარეობის ტენდენციების შესწავლა საქართველოში.

კვლევის მეთოდოლოგიური საფუძველია თვისობრივი კვლევა, ე.წ. „კაბინეტური კვლევის“ მეთოდი (desk research): სტატისტიკური მონაცემების შეკრება, აღწერილობა, სისტემატიზაცია, შედარება, ანალიზი, ინტერპრეტაცია. ბავშვთა ჯანმრთელობის ინდიკატორების შესახებ მონაცემები აღებულია დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანდაცვის ეროვნული ცენტრიდან და საქართველოს სტატისტიკის ეროვნული სამსახურიდან. შესწავლილია შემდეგი ინდიკატორების დინამიკა: 0-1 წლამდე ასაკის ბავშვთა სიკვდილიანობა და ავადობა, ნეონატალური სიკვდილიანობა, ადრეული ნეონატალური სიკვდილიანობა, გვიანი ნეონატალური სიკვდილიანობა, პერინატალური სიკვდილიანობა,

მკვდრადშობადობა. სამართლებრივი ბაზის შე-  
სწავლად გამოყენებული იყო საქართველოს  
მთავრობის დადგენილებები, საქართველოს შრო-  
მის, ჯანმრთელობისა და სოციალური დაცვის  
სამინისტროს ნორმატიული აქტები.

გამოვლინდა, რომ 0-1 წლამდე ასაკის ბავშ-  
ვთა სიკვდილიანობის, ნეონატალური, ადრეული  
ნეონატალური სიკვდილიანობის მაჩვენებლები  
შემცირდა, თუმცა მნიშვნელოვნად აღემატება ევ-  
როპის ქვეყნების მონაცემებს. მომატებულია გვი-  
ანი ნეონატალური სიკვდილიანობის, მკვდრად-  
შობადობის, პერინატალური სიკვდილიანობის  
მაჩვენებლები, მკვდრადშობადობისა და ად-  
რეული ნეონატალური სიკვდილიანობის შე-  
ფარდება. გაიზარდა ახალშობილთა შემდეგი  
დაავადებების ინციდენტობამ: პერინატალური  
პერიოდისათვის დამახასიათებელი ინფექციები  
და ახალშობილთა ბაქტერიული სეფსისი.

0-1 წლამდე ასაკის ბავშვთა სიკვდილიანობის

სტრუქტურაში გაიზარდა შემდეგი დაავადებების  
ინციდენტობა: პერინატალურ პერიოდში განვი-  
თარებული ზოგიერთი მდგომარეობები, თანდაყო-  
ლილი მანკები, დეფორმაციები და ქრომოსომუ-  
ლი დაავადებები. 0-1 წლამდე ასაკის ბავშვებში  
აღინიშნა სუნთქვის ორგანოების, ყურისა და  
დვრილისებრი მორჩის, ინფექციური და პარაზი-  
ტული დაავადების მაჩვენებლების მატება.

გვიანი ნეონატალური სიკვდილიანობის, პერი-  
ნატალური სიკვდილიანობისა და მკვდრადშო-  
ბადობის მაღალი მაჩვენებლები, ახალშობილთა  
ავადობაში პერინატალური პერიოდის სპეციფი-  
კური ინფექციების და ახალშობილთა ბაქტერი-  
ული სეფსისის მაღალი და მზარდი ინციდენ-  
ტობა მიუთითებს, რომ ანტენატალურ პერიოდში  
სამედიცინო მომსახურების ხარისხი არ შეესა-  
ბამება სტანდარტს, არაადეკვატურია ორსულისა  
და ნაყოფის რისკების შეფასება, ინფექციების  
იდენტიფიცირება, პრევენცია და მკურნალობა.

## EVALUATION OF DEVELOPMENTAL OUTCOMES WITH BAYLEY III TEST IN PRETERM INFANTS WITH RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

<sup>1</sup>Kherkheulidze M., <sup>1</sup>Chkhaidze I., <sup>1</sup>Kavlashvili N., <sup>1</sup>Kandelaki E., <sup>1</sup>Adamia N., <sup>2</sup>Abelashvili D., <sup>3</sup>Tabatadze T.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Dept. of Pediatrics, <sup>2</sup>Givi Zhvania Academic Pediatric Clinic;  
<sup>3</sup>M. Iashvili Children's Central Hospital, Tbilisi, Georgia

The increasing survival of premature newborns with  
severe problems during neonatal period emphasizes the  
importance of evaluation of long-term outcomes. Babies  
who are born preterm, asphyxiated, had severe infections  
in early period of life and required prolonged intensive  
care during neonatal period are always at higher risk of  
developing different developmental disabilities in early  
childhood [12].

The recent studies show the increased risk for devel-  
opmental disorders in extremely premature and very low  
birth weight infants [4,5,12]. It is estimated that as many  
as 15% of the most abehavioral deficits [1,5,14] Prema-  
ture birth exposes the infant to a range of developmental  
risks. Premature infants often exhibit lower cognitive and  
motor skills that persist into later childhood [10,12]. In  
addition, problems in the attention system have been not-  
ed and premature infants spend shorter periods in alert-  
scanning states [6].

Respiratory distress remains as one of the major prob-  
lems of premature infants. 15% term infants and 29% of  
late preterm infants admitted to the neonatal intensive  
care unit develop significant respiratory morbidity; this  
is even higher for infants born before 34 weeks' gesta-  
tion [11]. There are studies showing that neonatal infec-  
tions, asphyxia, encephalopathy, severe jaundice have a

great impact on developmental outcomes in early years,  
but there are lack of recent studies assessing long-term  
outcome of neonate with Respiratory distress syndrome  
and those studies show controversial results [3,9,13]. So,  
it is very important to analyze whether RDS syndrome af-  
fect child development and increase risk of developmen-  
tal delays.

In light of the above, the goal of this study was as-  
sessment of developmental outcome of neonates with  
respiratory distress syndrome, evaluation of the impact  
of RDS on child's health and neurodevelopment at 2  
years of age.

**Material and methods.** Case control study included  
138 children (91% from the group who were enrolled in  
study (n=151) who continued it until 24 months). From  
those, 74 were preterm patients (gestational age 32-36  
weeks) who were treated in NICU and Neonatal depart-  
ment of Iashvili children's central hospital and 42 pa-  
tients were patients born term with uncomplicated his-  
tory, discharged from maternity houses. Diagnosis of  
RDS in neonatal unit was established based on clinical  
signs (tachypnea, cyanosis, grunting, chest retraction),  
arterial blood gases changes and X-ray findings (reticulo-  
nodular opacities, air-bronchograms). To assess the im-  
pact of RDS without other co-factors, that can affect child

development we excluded from the study children with congenital malformations, genetic and metabolic disorders; intracranial hemorrhage, neuromuscular diseases, severe hyperbilirubinemia, sepsis, congenital infections as well as family with drug or alcohol addiction or severe mental disorder, or parents younger than 17 years of age at the time of the baby's birth. The study and control group were homogenous based on family social-economic status, parents education, mean parental age, mother health status, to minimize the bias. We assessed the health status, physical growth and development of children at mean age (corrected age) of 24±4 months. The study group were divided into 2 groups: first group involved 38 children born preterm with RDS in neonatal period, who were treated in NICU and neonatal department, II group - 36 patients with prematurity (same gestational age), but without vivid health problems during neonatal period who were transferred from maternity houses to our clinic's neonatal department for nursing care. Control group include 42 children, born term with 38-41 weeks of gestation and without neonatal problems. Physical growth was assessed based on the WHO Standard Deviation growth charts, health status based on detailed history and clinical examination, child development was assessed using Bayley Scales of Infant and Toddler Development III. The hearing and visual assessment were conducted. Normal neurodevelopment was defined as no disability

or delay. We calculate composite scores for each sphere and compare mean composite scores of each group to each other. A statistical analysis was done with SPSS 17. We studied comparison of proportions and mean composite scores (T statistics, Standard error and value of significance P).

**Results and their discussion.** The demographic, social, and neonatal characteristics of children in our study cohort are summarized in Table 1.

The assessment of the health of the children shows that children with RDS as well as prematurely born children without RDS have more respiratory infections during first years of life and more hospitalization than control group (Fig. 1). The p-value is >0,5 comparing children with RDS and children with prematurity without RDS, but p <0,05 comparing the both study group of premature with control group of term infants. Increased risk for development of bronchopulmonary dysplasia was seen in RDS group but it does not show significance that can be due to small sample size.

Fig. 1 shows that overall premature infants are at higher risk for acute respiratory tract infections and hospitalization, but RDS does not affect significantly the prevalence of acute respiratory infections. There is no difference between I and II study groups (p>0,5). The hospitalization of infants mostly was due to lower respiratory tract infections and gastroenteritis. The causes of hospitalization of premature infants are presented on Fig. 2.

Table 1. Characteristics of the study cohort

Characteristics		I group	II Group	III Group
Sex	Male	22 (52,6%)	20 (55,5%)	20 (47,6%)
	Female	16 (47,4%)	16 (44,5 %)	22 (52,4%)
Age	Mean (months)	24 ±4	24±4	24± 4
Birth weight	Mean (grams)	2100±580	2060±602	3050±480
Apgar score	< 6 on 1 min	17 (44,1%)	16 (44,4%)	8 (19,2%)
	<6 on 5 min	11 (31,4%)	7 (19,4%)	3 (7,2%)
Economic status	Low income	14 (36,8%)	16 (44,4%)	17 (40,4%)
	Medium and high income	24 (63,1%)	20 (55,6%)	25 (59,6%)
Mother education	Less than secondary	7 (18,4%)	6 (16,7%)	8 (19,0%)
	Secondary and high	31 (81,6%)	30 (83,3%)	34 (81%)
Mother employment	Housewife	13 (34,2 %)	12 (33, 3%)	15 (35,7%)
	Employed	25 (65,8%)	24 (66,7%)	27 (64,3%)
Father education	Less than secondary	10 (26,3 %)	11 (30,5%)	13 (30,9%)
	Secondary and high	28 (73,7%)	25 (69,5%)	29 (69,1%)



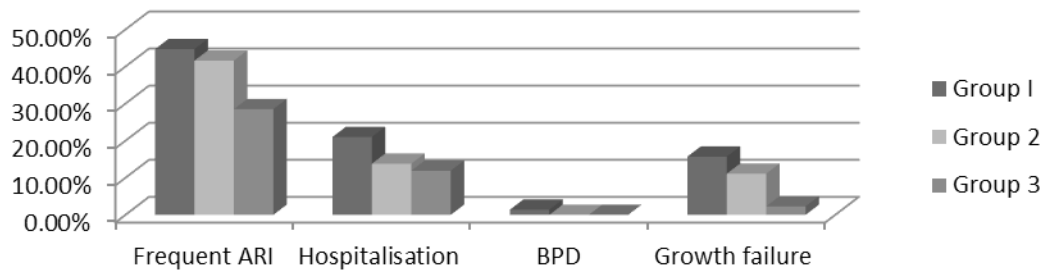


Fig. 1. Percentage of Health and growth parameters of the study population

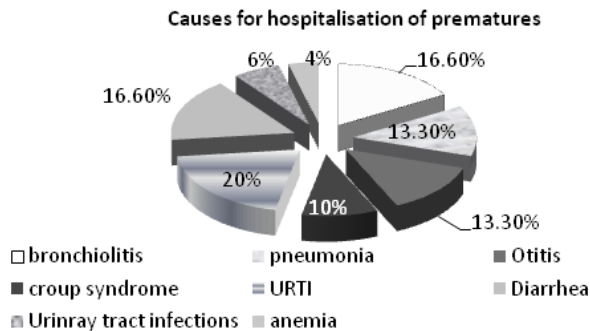


Fig. 2. Causes for hospitalization of premature infants

As presented on Fig. 2 the main causes of hospitalization are respiratory tract infections, among lower respiratory tract pathology as pneumonia and bronchiolitis and diarrhea. The causes of hospitalization in study group do not differ from control.

Growth assessment does not show difference in child's height and head circumference in study and control group ( $p > 0,05$ ) while the percentage of children with underweight according corrected age was more evident in first and second group than in control. In first and second group underweight (weight below  $-2$  Z score for corrected age on weight to age diagram) was revealed in 15,7% and 11,1%, while in control group only 2,3% of children show underweight ( $p = 0,0401$ ). One child in RDS group developed retinopathy of prematurity, we do not reveal hearing loss in studied cohort.

The motor development assessment based on Bayley motor composite scores are presented on Fig. 3.

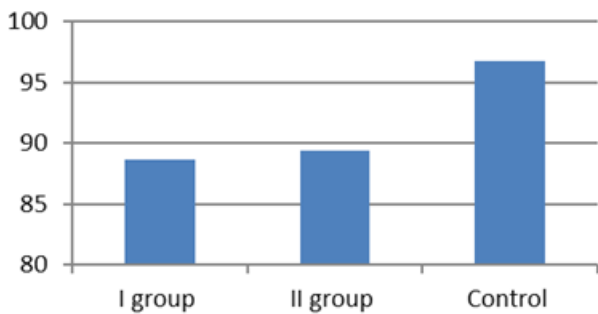


Fig. 3. Mean Composite scores of motor development of each group by Bayley III

Despite that the motor composite scores are lower in premature infants with RDS, it does not show the significant difference ( $p = 0,7755$ ) compared to second group of premature infants without RDS this can be explained by small sample size. At the same time comparing both groups to control group, we revealed that there was statistically significant difference (Table 2). Based on Table 2 children born premature with RDS show lower motor composite scores comparing to control ( $P = 0,0021$ ), as well as children born preterm without neonatal problems also have lower motor composite scores comparing to control group ( $P = 0,0021$ ). Mostly were affected fine motor abilities. So preterm children show motor developmental delay but RDS does not have greater impact on motor development than prematurity. Assessment of the cognitive scores revealed that in first and second group it was lower than in control but it was not statistically significant ( $p > 0,05$ ), while the language developmental scores in first and second group show difference comparing to control group. The Composite scores for language development is presented in Fig. 4.

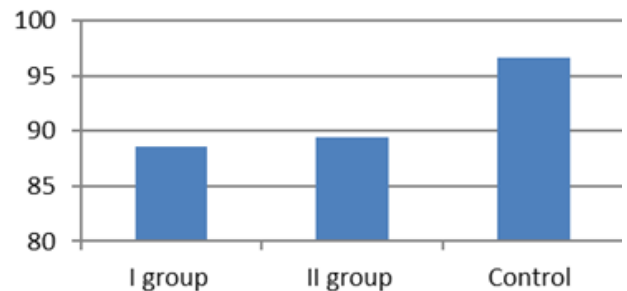


Fig. 4. Mean composite scores of language development of each group by Bayley III

As it is presented on Fig. 4 the composite scores of I and II group are lower than in control group. but comparing the I group with II group does not differ ( $p = 0,6850$ ). Comparing results of first and second group to control show statistically significant difference (Table 3).

Based on table 4 children born premature with RDS show lower language composite scores comparing to control ( $< 0,0001$ ), as well as children born preterm without neonatal problems also have lower language composite scores comparing to control ( $< 0,0001$ ). So preterm children show language developmental delay but RDS does not have greater impact on motor development than prematurity.

Table 2. Comparison of mean composite scores of motor development in RD, premature and control groups

	RDS and premature group	RDS group to control	Premature group to control
Difference	0.400	4.200	4.200
Standard error	1.398	1.317	1.317
95% CI	-2.3860 to 3.1860	1.5763 to 6.8237	1.5763 to 6.8237
t-statistic	0.286	3.188	3.188
Significance level	P = 0.7755	P = 0.0021	P = 0.0021

Table 3. Comparison of mean composite scores in RDS, Premature and Control study groups

	RDS and Premature groups	RDS and Control groups	Premature and Control groups
Difference	0.600	8.100	7.500
Standard error	1.473	1.570	1.497
95% CI	-2.3365 to 3.5365	4.9741 to 11.2259	4.5179 to 10.4821
t-statistic	0.407	5.159	5.009
Significance level	P = 0.6850	P < 0.0001	P < 0.0001

Babies who are born preterm, asphyxiated, had severe infections in early period of life and required prolonged intensive care during neonatal period are always at risk of developing different developmental disabilities [1]. We found that premature children at 2 years of age despite RDS have lower scores in fine motor and language development, that is similar to other studies which found that in the preterm group who was treated in NICU and needed oxygen supply is higher Global developmental delay [1,9]. Study conducted by Elena V. Wachtel et al show that late preterm infants with significant respiratory morbidities are at higher risk for long-term developmental delays, mainly affecting cognitive developmental domains. Infants with diagnosis of moderate-to-severe respiratory distress syndrome showed a significantly lower performance in the visual reception, as well as lower performance in the receptive language [15]. The study conducted by Michele C. Walsh-Sukys, Roberta E. Bauer et al for assessment of morbidity, mortality and neurodevelopmental outcomes in children with neonatal respiratory failure treated with and without extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) shows that conventionally treated group had significantly more chronic lung disease, longer duration of oxygen therapy, more chronic reactive airway disease, and more re-hospitalizations and more neurodevelopmental impairment [16]. Our study shows that in the preterm children with RDS and preterm children have higher morbidity rate due to respiratory infections and diarrhea and more hospitalization compared with term children.

Many VLBW infants fail to achieve their ultimate growth potential as a result of intrauterine and postnatal growth failure. Impaired head growth and subnormal head size are associated with poor cognitive function and academic achievement at 8 years of age, suggesting a link between postnatal growth and neurodevelopmental potential [2,14]. The NICHD Neonatal Research Network reported that while 16% of ELBW infants were small for gestational age at birth, by 36 weeks of PCA, 89% had growth failure, by 18 to 22 months of corrected age, 40% still were at less than the 10th percentile for weight, length, and head circumference [2]. In

our study we do not reveal significant difference in height and head circumference between premature and term infants at 2 years of age, while frequency of underweight was significantly more in study group compared to control, but there was not difference between I and II studied groups. There are studies that show correlation between thirds and neurodevelopmental impairment. The study of Athena Patrianakos-Hoobler distinguishes important, subtle, functional delays in school readiness scores in children with RDS, that is leading to poor school performance [8]. Comparison of the outcomes of children with RDS and Bronchopulmonary dysplasia revealed that children with bronchopulmonary dysplasia have more growth and developmental impairments than children with RDS [7,13]. Our study does not show significant difference of composite scores of Bayley III between preterm infants and preterm infants with RDS, that can be explained with small sample size. At the same time our study shows statistically higher impairment of fine motor and language scores in I and II study groups (preterm with RDs and preterm without RDS) in comparison with control (term) group.

**Conclusion.** Prematurity increases risk for neurodevelopmental impairments that is important to identify and start early intervention to improve the outcomes. It is shown that neonatal complications (Jaundice, infections, asphyxia and etc.) affect development more than prematurity itself, it is very important to conduct big cohort studies on neonates with RDS to identify the risks associated with RDS and its severity.

## REFERENCES

1. Chattopadhyay N, Kaninika Mitra: Neurodevelopmental outcome of high risk newborns discharged from special care baby units in a rural district in India. // Journal of Public Health Research 2015; 4(318): 140-148.
2. Dusick AM, Poindexter BB, Ehrenkranz RA, Lemons JA. Growth failure in the preterm infant: can we catch up? // Semin. Perinatol. 2003; 27:302-310.

3. Eras Z, Aksoy H et al. Neurodevelopmental outcome one year after early versus late selective surfactant treatment. // *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences* 2011; 19(3): 137-140.
4. Hintz SR, Barnes P.D, Bulas D. et al. Neuroimaging and Neurodevelopmental Outcome in Extremely Preterm Infants // *Journal of Pediatrics* 2015; 135(1): 11-19.
5. Hibbard JU, Wilkins I, et al. Consortium on Safe Labor. Respiratory morbidity in late preterm births // *JAMA* 2010; 304(4): 419-425.
6. Jarjour T: Neurodevelopmental Outcome After Extreme Prematurity: a review of the Literature // *J. Pediatric Neurology* 2015; 52(2): 143-152.
7. Meisels Samuel J, Plunkett, James W. et al. Growth and Development of Preterm Infants With Respiratory Distress Syndrome and Bronchopulmonary Dysplasia // *J. Pediatrics* 1986; 77(3): 345-352.
8. Patrianakos-Hoobler Athena I., Michael E. Msall, Jeremy D. Marks et al. Risk Factors Affecting School Readiness in Premature Infants with Respiratory Distress Syndrome. // *J. Pediatrics* 2009; 124 (1): 258-267.
9. Piekala Paula, Pentti Kero et al: Growth and Development of Infants Surviving Respiratory Distress Syndrome: A 2-Year Follow-up. // *J. Pediatrics* 1987; 79(4): 529-537.
10. Platt M.J : Outcomes in preterm infants // *J. Public Health* 2014; 128(5): 399-403.
11. Reuter Suzanne, Chuanpit Moser et al. Respiratory Distress in the Newborn // *J. Pediatrics in Review* 2014; 35(10): 417-429.
12. Shrestha M, Bajracharya L, Shrestha L: Neurodevelopmental Outcome of High Risk Babies at One Year of Age Born in a Tertiary Centre. // *Journal of Nepal Paediatric Society* 2017; 37(1): 45-50.
13. Singer Lynn. A Longitudinal Study of Developmental Outcome of Infants With Bronchopulmonary Dysplasia and Very Low Birth Weight. // *Journal Pediatrics* 1997; 100(6): 987-993.
14. Stoll Barbara J., Nellie I. Hansen et al: Neurodevelopmental and Growth Impairment Among Extremely Low-Birth-Weight Infants With Neonatal Infection. // *JAMA* 2004; 292(19): 2357-2366.
15. Wachtel Elena V., Michele Zaccario: Impact of Respiratory Morbidities on Neurodevelopmental Outcome of Late Preterm Infants. // *Journal Perinatology* 2015; 32(12): 1164-1168.
16. Walsh-Sukys Michele C., Roberta E. Bauer et al: Severe respiratory failure in neonates: Mortality and morbidity rates and neurodevelopmental outcomes. // *Journal Pediatrics* 1994; 125(1): 104-110.

## SUMMARY

### EVALUATION OF DEVELOPMENTAL OUTCOMES WITH BAYLEY III TEST IN PRETERM INFANTS WITH RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

<sup>1</sup>Kherkheulidze M., <sup>1</sup>Chkhaidze I., <sup>1</sup>Kavlashvili N., <sup>1</sup>Kandelaki E., <sup>1</sup>Adamia N., <sup>2</sup>Abelashvili D., <sup>3</sup>Tabatadze T.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Dept. of Pediatrics, <sup>2</sup>Givi Zhvania Academic Pediatric Clinic; <sup>3</sup>M. Iashvili Children's Central Hospital, Tbilisi, Georgia

Aim of our study was assessment of developmental outcome of neonates with respiratory distress syndrome,

evaluation of the impact of RDS on child's health, growth and neurodevelopment at 2 years of age. Case control study included 138 children, from those, 74 preterm (gestational age 32-36 weeks), who were divided into 2 study groups: I groups - involved 38 preterm with RDS and II group - 36 preterm patients without RDS and other neonatal problems. Control group included 42 patients born term with uncomplicated history. To assess the impact of RDS without other co-factors, we excluded from the study children with congenital malformations, genetic and metabolic disorders; intracranial hemorrhage, neuromuscular diseases, severe hyperbilirubinemia, sepsis, congenital infections as well as family with drug or alcohol addiction, severe mental disorder, parents younger than 17 years of age at the time of the baby's birth. The study and control group were homogenous based on family social-economic status, parents education, mean parental age, mother health status, to minimize the bias. We assessed the health status, physical growth and development of children at mean age (corrected age) of 24+4 months. Physical growth was assessed based on the WHO Standard Deviation growth charts, health status based on detailed history and clinical examination, child development was assessed using Bayley Scales of Infant and toddler development III. We calculate composite scores for each sphere and compare mean composite scores of each group to each other. Statistical analyses were based on SPSS 17. The assessment of the health shows that children with RDS as well as prematurely born children without RDS have more respiratory infections during first years of life and more hospitalization than control group. The p-value is >0,5 comparing children with RDS and children with prematurity without RDS, but p < 0,05 if we compare the both group of premature with control group of term infants. Our study does not show that RDS affects significantly the prevalence of acute respiratory infections. The main causes of hospitalization in studied as well as in control group are respiratory tract infections and diarrhea. Growth assessment does not show significant difference in child's height and head circumference, while the percentage of children with underweight according corrected age was more evident in I and II group than in control (p=0,0401). The motor composite scores are lower in premature infants with RDS, but it does not show the significant difference (p=0,7755) compared to second group of premature infants without RDS, at the same time comparing both groups to controls show significant difference (P =0.0021). Mostly were affected fine motor abilities. Assessment of the cognitive scores does not show difference between study and control groups, while the language developmental scores in first and second group were significantly lower than in control (P < 0.0001), but there was no difference between I and groups. We found that premature children at 2 years of age despite RDS have lower scores comparing to term newborns in fine motor and language development.

Prematurity increases risk for neurodevelopmental impairments that is important to identify and start early intervention to improve the outcomes. It is shown that neonatal complications (Jaundice, infections, asphyxia and etc.) affect development more than prematurity itself, it is very important to conduct big cohort studies on neonates with RDS to identify the risks associated with RDS and its severity.

**Keywords:** Premature infants, neonatal complications, respiratory distress syndrome, neurodevelopmental impairments, Bayley III.

## РЕЗЮМЕ

### ОЦЕНКА РАЗВИТИЯ НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С РЕСПИРАТОРНЫМ ДИСТРЕСС-СИНДРОМОМ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕСТА БЕЙЛИ

<sup>1</sup>Херхеулидзе М.Н., <sup>1</sup>Чхаидзе И.Г.,  
<sup>1</sup>Кавлашвили Н.И., <sup>1</sup>Канделаки Е.Т., <sup>1</sup>Адамия Н.А.,  
<sup>2</sup>Абелашвили Д.И., <sup>3</sup>Табатадзе Т.Дж.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, <sup>2</sup>Детская педиатрическая клиника им. Г. Жвания; <sup>3</sup>Детская центральная больница им. М. Иашвили, Тбилиси, Грузия

Целью исследования явилась оценка состояния здоровья, роста и развития недоношенных детей с респираторным дистресс-синдромом в возрасте 2 лет.

Исследованы 138 детей, из них 74 недоношенных (гестационный возраст 32-36 недель) - исследуемая группа, которая была разделена на 2 подгруппы: I подгруппа - 38 недоношенных детей с респираторным дистресс-синдромом (РДС) и II подгруппа - 36 недоношенных без РДС и других неонатальных проблем. Контрольная группа включала 42 доношенных без неонатальных проблем. Исследуемая и контрольная группы были сопоставимы по социально-экономическому состоянию семьи, возрасту и образованию родителей, состоянию здоровья матери. Оценка проводилась в возрасте 24±4 месяцев. Рост ребенка определяли с учетом стандартных диаграмм ВОЗ, развитие - с использованием теста развития Бейли III: вычислялись композитные баллы для каждой сферы развития.

Выявлено, что дети с РДС, а также недоношенные без РДС в течение первого года жизни болеют респираторными заболеваниями и нуждаются в госпитализации, чаще чем дети контрольной группы ( $p < 0,05$ ), однако достоверной разницы между первой и второй подгруппами не выявлено ( $p > 0,05$ ). Госпитализация, в основном, вызвана инфекциями дыхательных путей и диареей, причины госпитализации в группах не различаются. В показателях роста и окружности головы различий между группами не выявлено, дефицит веса

чаще отмечается в I и II подгруппах в сравнении с контрольной группой ( $p = 0,0401$ ), однако достоверной разницы между первой и второй подгруппами не выявлено ( $p > 0,05$ ). Композитные баллы моторной сферы относительно низкие у детей с РДС и у недоношенных без РДС в сравнении с контрольной группой ( $P = 0,0021$ ). Композитные баллы когнитивной сферы в группах не различаются, однако оценка композитных баллов развития речи показала более низкие значения в сравнении с контрольной группой ( $P < 0,0001$ ).

Таким образом, недоношенные дети в возрасте 2 лет, несмотря на наличие РДС отстают в развитии моторики, особенно мелкой моторики и развитии речи. Недоношенность увеличивает риск возникновения проблем в развитии ребенка, что ставит перед необходимостью раннего выявления и своевременной интервенции с целью улучшения исхода. Авторы указывают на необходимость проведения когортных исследований с целью определения влияния РДС и его тяжелых форм на разные сферы развития ребенка.

## რეზიუმე

რესპირაციული დისტრეს-სინდრომით დღენაკლულ ახალშობილების განვითარების შეფასება ბეილის ტესტით

<sup>1</sup>მ. ხერხეულიძე, <sup>1</sup>ი. ჩხაიძე, <sup>1</sup>ნ. კავლაშვილი, <sup>1</sup>ე. კანდელაკი, <sup>1</sup>ნ. ადამია, <sup>2</sup>დ. აბელაშვილი, <sup>3</sup>თ. ტაბატაძე

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>გ. ჟვანიას სახ. პედიატრიის აკადემიური კლინიკა; <sup>3</sup>მ. იაშვილის სახ. ბავშვთა ცენტრალური საავადმყოფო, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა რესპირაციული დისტრეს-სინდრომით დღენაკლულ ბავშვთა ჯანმრთელობის მდგომარეობისა და ზრდა-განვითარების შედეგების შეფასება 2 წლის ასაკში.

შემთხვევა-კონტროლის კვლევა მოიცავდა 138 ბავშვს, მათ შორის 74 დღენაკლულს (გესტაციური ასაკი 32-36 კვირა). საკვლევი ჯგუფი დაყოფილი იყო ორ ქვეჯგუფად: I - 38 დღენაკლული რესპირაციული დისტრეს-სინდრომით (RDS) და II ქვეჯგუფი - 36 დღენაკლული RDS-ის და სხვა ნეონატალური პრობლემების გარეშე. საკონტროლო ჯგუფი მოიცავდა 42 დროულ პაციენტს, ნეონატალური პრობლემების გარეშე. საკვლევი და საკონტროლო ჯგუფი ჰომოგენური იყო ოჯახის სოციალურ-ეკონომიკური მდგომარეობის, მშობლების ასაკისა და განათლების, დედის ჯანმრთელობის მდგომარეობის მიხედვით. ჯანმრთელობის და ზრდა-განვითარების შეფასება ჩატარდა 24±4 თვის ასაკში. ზრდის შეფასება ეფუძნებოდა ჯანმო-ს სტანდარტული დევიაციის დიაგრამებს, ჯანმრთელობის მდგომარეობის შესაფასებლად



გამოიყენებული იყო დეტალური ისტორია და კლინიკური გამოკვლევები, ბავშვის განვითარება შეფასდა ბეილის III განვითარების ტესტით, რომლის თანახმად თითოეულ სფეროში ხდებოდა კომპოზიტური ქულების გამოანგარიშება.

კვლევის შედეგების მიხედვით RDS-ით ბავშვები, ისევე როგორც დღენაკლები, უფრო ხშირად ავადობენ რესპირაციული დაავადებებით სიცოცხლის პირველი წლის განმავლობაში და უფრო ხშირად საჭიროებენ ჰოსპიტალიზაციას, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფის ბავშვები ( $P < 0,05$ ), თუმცა პირველ და მეორე საკვლევ ქვეჯგუფს შორის სხვაობა არ გამოვლინდა. ჰოსპიტალიზაციის ძირითადი მიზეზები, როგორც საკვლევი, ისე საკონტროლო ჯგუფში წარმოდგენილი იყო სასუნთქი გზების ინფექციებითა და დიარეით. ბავშვის სიმაღლის და თავის გარშემოწერილობის პარამეტრები სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა ერთმანეთისგან, თუმცა წონის დეფიციტი კორექტირებულ ასაკთან მიმართებაში უფრო ხშირი იყო საკვლევი ჯგუფში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ( $p = 0,0401$ ), პირველ და მეორე ქვეჯგუფს შორის სხვაობა არ გამოვლინდა ( $p > 0,05$ ). მოტორული სფეროს კომპოზიტური

ქულები შედარებით დაბალი იყო I ქვეჯგუფში II ქვეჯგუფთან შედარებით, სხვაობა არ იყო სარწმუნო ( $p = 0,7755$ ), თუმცა გამოვლინა სარწმუნო განსხვავება ( $p = 0,0021$ ) თითოეულ საკვლევი ქვეჯგუფსა საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. კოგნიტიური სფეროს კომპოზიტური ქულებში განსხვავება საკვლევი და საკონტროლო ჯგუფში არ აღმოჩნდა, გამონაკლისს წარმოადგენს მეტყველების სფეროს კომპოზიტური ქულები, რომლებიც გაცილებით დაბალი იყო საკვლევი ჯგუფში ( $p < 0,0001$ ).

2 წლის ასაკის დღენაკლებ ბავშვებში რესპირაციული დისტრეს-სინდრომით ან მის გარეშე საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით გამოვლინდა უპირატესად ნატიფი მოტორიკის და მეტყველების შეფერხება. ჩატარებული კვლევის შედეგები მიუთითებს, რომ RDS მნიშვნელოვნად არ ზრდის განვითარების პრობლემების რისკს, რაც შესაძლებელია მცირე საკვლევი პოპულაციითაც იყოს განპირობებული. ძალზედ მნიშვნელოვანია RDS-ის მქონე პაციენტთა კოჰორტული კვლევა, რათა სრულყოფილად გამოვლინდეს RDS-ის და მისი სიმძიმის ზეგავლენა ბავშვის ნეიროგანვითარებაზე.

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВООБРАЩЕНИЯ В ПЕРВЫЕ 3 МЕСЯЦА ПОСЛЕ РАДИОЧАСТОТНОЙ АБЛЯЦИИ ФИБРИЛЛЯЦИИ И ТРЕПЕТАНИЯ ПРЕДСЕРДИЙ

<sup>1</sup>Брынза М.С., <sup>2</sup>Бильченко А.В., <sup>1</sup>Махаринская Е.С., <sup>1</sup>Шевчук М.И., <sup>1</sup>Яблчанский Н.И.

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина;

<sup>2</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Фибрилляция (ФП) и трепетание предсердий (ТП) являются значимой проблемой здравоохранения. Частота их осложнений увеличивается в зависимости от возраста больных, сопутствующей кардиоваскулярной и некардиальной патологии и с каждым годом составляет все большую долю в общей структуре смертности [2,13]. Одной из ведущих тактик лечения наджелудочковых аритмий, в том числе ФП и ТП, является катетерная радиочастотная абляция (РЧА) [2,11].

Мониторинг функциональных показателей кровообращения является основным методом контроля эффективности РЧА наджелудочковых аритмий, а также последующей медикаментозной терапии в остром постабляционном периоде до 3 месяцев [2]. Однако, динамика этих показателей и ее влияние на последующее терапевтическое сопровождение недостаточно изучены.

Целью исследования явился анализ функциональных показателей кровообращения в первые 3 месяца

после радиочастотной абляции фибрилляции и трепетания предсердий.

**Материал и методы.** На базе Государственного учреждения «Институт общей и неотложной хирургии им. В.Т. Зайцева НАМН Украины» (ГУ ИОНХ НАМНУ) в отделении ультразвуковой и клинико-инструментальной диагностики и миниинвазивных вмешательств обследованы 113 пациентов в возрасте  $59,3 \pm 10,1$  лет, из них 51 женщина в возрасте  $62,2 \pm 10,7$  лет и 62 мужчины в возрасте  $56,9 \pm 9,5$  лет. Всем пациентам проведена РЧА изоляция легочных вен (ЛВ) по поводу ФП, РЧА вага-трикуспидального истмуса (КТИ) по поводу ТП, или комбинированная РЧА ЛВ и КТИ в период с 2015 до 2017 гг.

Медикаментозная терапия пациентов проводилась согласно действующим рекомендациям и протоколам оказания медицинской помощи [1].

Из исследования исключались пациенты в возрасте до 30 лет, с сопутствующей стабильной стенокар-

дией IV функционального класса (ФК), хронической сердечной недостаточностью (ХСН) IV ФК и/или III стадией до проведения РЧА, пациентам, которым была проведена РЧА атрио-вентрикулярного соединения.

Оценивались функциональные показатели кровообращения: наличие эпизодов ФП и/или ТП по данным 24-часового мониторирования электрокардиограммы (ЭКГ); уровень систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД); показатели стандартной ЭКГ: частота сердечных сокращений (ЧСС), продолжительность интервала QTc, продолжительность комплекса QRS; показатели эхокардиографии (ЭхоКГ): конечно-систолический объем (КСО), конечно-диастолический объем (КДО), фракция выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ), толщина задней стенки ЛЖ (ТЗС ЛЖ), толщина межжелудочковой перегородки (ТМЖП), масса миокарда ЛЖ (ММЛЖ), переднезадний размер левого предсердия (ЛП), правого предсердия (ПП) и правого желудочка (ПЖ).

24-часовое мониторирование ЭКГ проводилось на трехканальном Холтеровском мониторе «Кардиосенс» (ХАИ-Медика, Харьков); регистрация стандартной 12-канальной ЭКГ - на компьютерном электрокардиографе «Кардиолаб+» (ХАИ-Медика, Харьков). Анализ продолжительности комплекса QRS и интервала QT на ЭКГ осуществлялся в трех последовательных комплексах в отведениях II, V5 и V6, с последующим выбором максимального измеренного значения. Продолжительность скорректированного интервала QT (QTc) у пациентов на фоне синусового ритма с ЧСС от 60 до 90 уд/мин вычислялась с помощью формулы Bazett:  $QTc = QT / (RR^{0,5})$ ; у пациентов на фоне синусового ритма с ЧСС <60 и >90 уд/мин – формулы Fredericia:  $QTc = QT / (RR^{0,33})$ ; у пациентов с ФП или ТП – формулы Feringem:  $QTc = QT + 0,154 \times (1000 - RR)$ ; точность измерения 0,5 мс.

Эхокардиографическое исследование проводилось на аппарате Siemens Sympress и Toshiba Aplio 400. Измерялись: передне-задний размер ЛП, толщина ЗС ЛЖ и МЖП, точность измерения – 0,5 мм, ударный объем (УО), конечно-систолический размер (КСР), конечно-диастолический размер (КДР). Для расчета фракции выброса (ФВ) ЛЖ использовали формулу:

$ФВ = УО / КДО$ . Расчет КДО и КСО по методу Simpson. Массу миокарда ЛЖ (ММЛЖ) рассчитывали по формуле Devereux R.B.  $ММЛЖ = 1,04 \cdot ((ТМЖП_{д} + ТЗС_{лжд} + КДР)^3 - КДР^3) - 13,6$  [12].

Пациенты были разделены на 3 группы: I группа – пациенты с изолированной ФП, которым проводилась РЧА ЛВ (45 пациентов, 39,8±4,6%); II группа – пациенты с изолированным ТП, которым проводилась РЧА КТИ (22 пациента, 19,5±3,7%); III группа – пациенты с комбинированной ФП и ТП, проводилась РЧА ЛВ и КТИ (46 пациентов, 40,7±4,6%). Значения функциональных показателей кровообращения оценивались до РЧА, в остром послеоперационном периоде на 3-5 сутки после РЧА и спустя 3 месяца после РЧА.

Данные обрабатывали после формирования базы данных в Microsoft Excel, пакет прикладной статистики «SPSS-17». Для статистической оценки результатов использовали параметрические критерии (среднее значение – М, стандартное отклонение sd), непараметрические критерии, а также относительные - р, процент (%) и средняя ошибка процента (sP) единицы. Статистическая значимость различий определялась с использованием t-критерия Стьюдента, U-критерия Манна-Уитни, уровень значимости был установлен на уровне  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Структура нарушений ритма сердца до проведения РЧА среди всех пациентов в исследовании представлена на рис. 1.

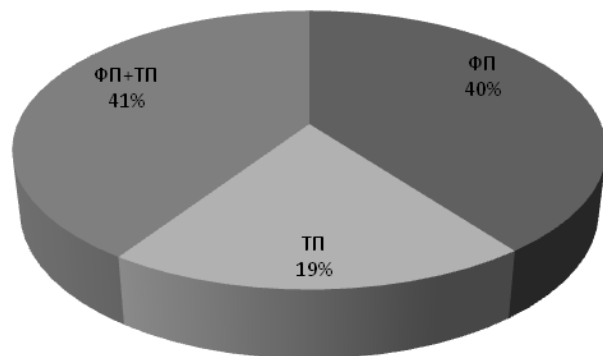


Рис. 1. Структура нарушений ритма сердца до проведения РЧА у обследуемых пациентов

Доля пациентов с изолированной ФП и с комбинацией ФП и ТП статистически значимо не отличались, тогда как доля пациентов с изолированным ТП была вдвое меньше.

Показатели частоты рецидивов аритмий в исследуемых группах ФП, ТП и ФП/ТП после РЧА представлены на рис. 2.

В группе ФП рецидив данной аритмии, после проведения РЧА, в остром послеоперационном периоде наблюдался почти у каждого пятого пациента, а к 3 месяцам уменьшился вдвое. У 1 пациента в группе ФП зарегистрирован эпизод ТП в остром послеоперационном периоде, однако к 3 месяцам его более не наблюдалось.

Эпизоды ФП в группе ТП регистрировались в остром послеоперационном периоде и спустя 3 месяца наблюдения с одинаковой частотой. Частота рецидивов ТП в группе уменьшалась вдвое на каждом из этапов послеоперационного наблюдения.

В группе комбинированной ФП/ТП рецидивы аритмий наблюдались наиболее часто: ФП зарегистрирована более чем у 20% пациентов в остром послеоперационном периоде и реже - к 3 месяцам; ТП выявлено у четверти пациентов в остром послеоперационном периоде и реже – к 3 месяцам наблюдения.

Артериальное давление в исследуемых группах ФП, ТП и ФП/ТП на этапах после РЧА представлены на рис. 3.

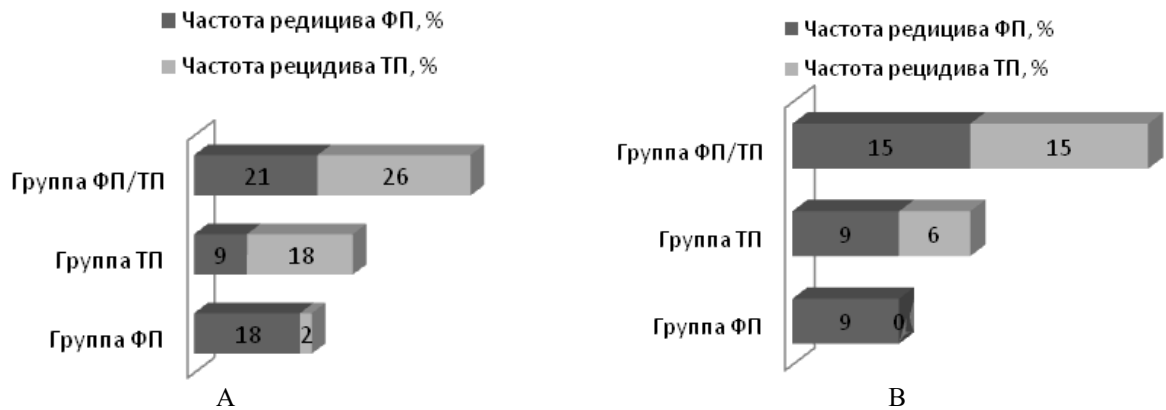


Рис. 2. Частота рецидивов аритмий в исследуемых группах ФП, ТП и ФП/ТП после проведения РЧА: в остром послеоперационном периоде (А) и 3 месяца спустя (В)

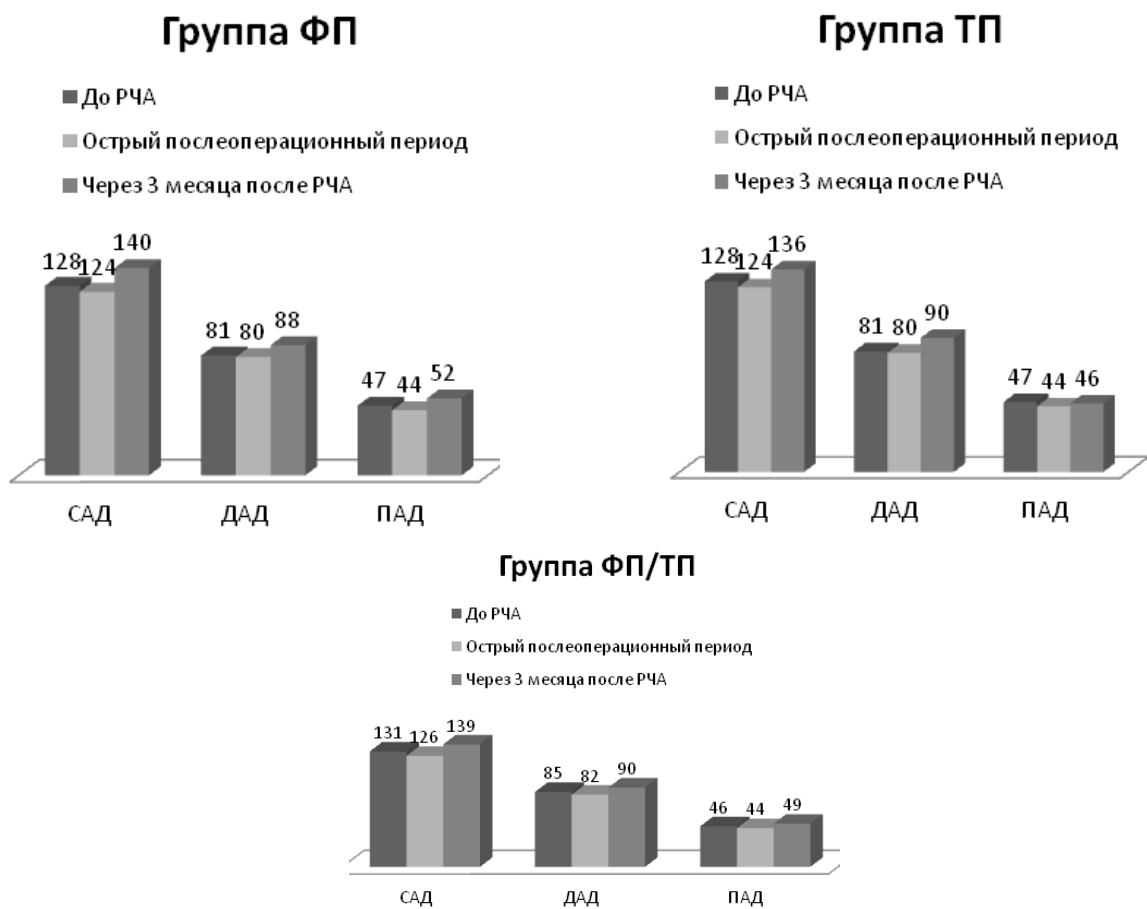


Рис. 3. Артериальное давление в исследуемых группах ФП, ТП и ФП/ТП на этапах после проведения РЧА

Показатели САД, ДАД и ПАД в остром периоде после РЧА не изменялись в группе изолированной ФП, однако повышались к 3 месяцам наблюдения. В группах ТП и ФП/ТП отмечались аналогичные изменения, а увеличение ПАД спустя 3 месяца было достоверным. Показатели ЭКГ и ЭхоКГ в группе ФП на этапах после РЧА приведены в таблице 1.

В остром периоде ЧСС и продолжительность интервала QTc на ЭКГ в группе ФП статистически значимо не изменялись, однако наблюдалось

уменьшение ЧСС и увеличение интервала QTc 3 месяца спустя после РЧА. Показатели продолжительности интервала QTc и комплекса QRS в данной группе оставались неизменными на всех этапах. В остром послеоперационном периоде в группе ФП изменений показателей ЭхоКГ не наблюдалось, а спустя 3 месяца после РЧА – уменьшались передне-задний размеры ПП и ПЖ. Показатели ЭКГ и ЭхоКГ в группе ТП на этапах после РЧА приведены в таблице 2.

Таблица 1. Показатели ЭКГ и ЭхоКГ в группе ФП на этапах после РЧА

Показатели		До РЧА	Острый п/о период после РЧА	Спустя 3 месяца после РЧА
Показатели ЭКГ	ЧСС, уд/мин	76,2±22,4	70,4±16,9	67,4±13,3*
	QTc, мс	361,5±86,6	403,6±79,5	411,7±38,1*
	QRS, мс	95,4±22,1	94,7±20,2	92,4±20,0
Показатели ЭхоКГ	КСО, мл	35,6±9,4	41,1±17,3	41,8±11,6
	КДО, мл	98,1±27,1	104,5±32,4	107,5±13,2
	ФВ ЛЖ, %	62,5±9,1	65,4±6,4	62,3±7,4
	ТЗС ЛЖ, см	1,0±0,2	1,1±0,1	1,0±0,1
	ТМЖП, см	1,1±0,2	1,1±0,1	1,0±0,1
	ММЛЖ, г	171,3±74,0	186,2±37,1	179,5±37,5
	ЛП, см	4,4±0,8	4,7±1,1	4,2±1,0
	ПП, см	4,1±0,7	4,0±0,9	3,2±0,9 <sup>#</sup>
	ПЖ, см	2,7±0,6	2,5±0,1	2,3±0,3*

\*- $p < 0,05$  для значений до и 3 месяца спустя после РЧА, <sup>#</sup>- $p < 0,05$  для значений в остром послеоперационном периоде и 3 месяца спустя после РЧА

Таблица 2. Показатели ЭКГ и ЭхоКГ в группе ТП на этапах после РЧА

Показатели		До РЧА	Острый п/о период после РЧА	Спустя 3 месяца после РЧА
Показатели ЭКГ	ЧСС, уд/мин	89,6±17,4	71,4±12,7*	68,3±12,5
	QTc, мс	388,4±71,5	409,3±63,8	418,2±69,1
	QRS, мс	88,5±26,1	90,2±20,2	92,4±14,5
Показатели ЭхоКГ	КСО, мл	38,5±11,2	37,9±15,4	41,8±15,4
	КДО, мл	98,5±16,8	105,1±12,8	92,2±9,8*
	ФВ ЛЖ, %	64,2±11,2	65,1±8,9	60,7±10,6
	ТЗС ЛЖ, см	1,0±0,1	1,0±0,2	1,0±0,2
	ТМЖП, см	1,0±0,2	1,0±0,1	1,1±0,1
	ММЛЖ, г	158,4±64,9	161,2±54,2	160,4±37,5
	ЛП, см	4,4±1,0	4,3±1,1	3,8±0,9
	ПП, см	4,5±0,7	4,5±0,6	3,4±0,9 <sup>#</sup>
	ПЖ, см	2,8±0,9	2,7±0,5	2,4±0,7

\*- $p < 0,05$  для значений до и в послеоперационном периоде, до и спустя 3 месяца после РЧА, <sup>#</sup>- $p < 0,05$  для значений в остром послеоперационном периоде и спустя 3 месяца после РЧА

В группе ТП ЧСС уменьшалась в остром послеоперационном периоде и оставалась неизменной к 3 месяцам после РЧА. Показатели продолжительности интервала QTc и комплекса QRS не изменялись на этапах наблюдения.

РЧА ТП значимо не изменяла показатели ЭхоКГ в остром послеоперационном периоде, однако к 3 месяцам наблюдалось уменьшение КДО и передне-заднего размера ПП. Показатели ЭКГ и ЭхоКГ в группе ФП/ТП на этапах после РЧА приведены в таблице 3.

В группе комбинированной ФП/ТП в остром послеоперационном периоде уменьшались показатели

ЧСС, затем 3 месяца спустя вновь увеличивались; показатели продолжительности интервала QTc в остром периоде не изменялись, однако увеличились 3 месяца спустя после РЧА.

В остром послеоперационном периоде изменений в показателях ЭхоКГ не наблюдалось, 3 месяца спустя увеличились КСО и передне-задние размеры камер сердца, а показатели ФВ ЛЖ в группе ФП/ТП понизились.

Полученные в ходе исследования данные по рецидиву ФП не отличались от результатов Joshobaev S. с соавт. [6] и данных исследования MANTRA-PAF trial [10] для пациентов после РЧА ЛВ. Более частый ре-



Таблица 3. Показатели ЭКГ и ЭхоКГ в группе ФП/ТП на этапах после РЧА

Показатели		До РЧА	Острый п/о период после РЧА	Спустя 3 месяца после РЧА
Показатели ЭКГ	ЧСС, уд/мин	91,2±17,6	76,1±12,5*	88,4±18,6 <sup>#</sup>
	QTc, мс	411,4±65,2	404,9±58,1	449,0±62,6* <sup>#</sup>
	QRS, мс	103,2±18,8	99,2±18,7	107,3±21,4
Показатели ЭхоКГ	КСО, мл	39,4±11,3	40,9±14,7	49,7±9,1* <sup>#</sup>
	КДО, мл	99,2±15,4	99,7±21,2	112,3±18,5
	ФВ ЛЖ, %	58,2±6,8	62,4±7,5	53,5±6,2 <sup>#</sup>
	ТЗС ЛЖ, см	1,1±0,2	1,1±0,2	1,2±0,2
	ТМЖП, см	1,1±0,2	1,2±0,2	1,2±0,2
	ММЛЖ, г	172,4±65,7	176,2±35,8	188,9±47,4
	ЛП, см	4,2±0,9	4,3±0,1	4,6±0,6
	ПП, см	4,2±0,7	4,0±0,5	4,3±0,5
	ПЖ, см	2,8±0,4	2,7±0,5	3,0±0,4

\* -  $p < 0,05$  для значений до и в остром послеоперационном периоде, до и 3 месяца спустя после РЧА,

<sup>#</sup> -  $p < 0,05$  для значений в остром послеоперационном периоде и 3 месяца спустя после РЧА

цидив ФП был показан Bai Y. с соавт. [3], что, следует объяснить тяжелой коморбидной патологией.

Частота рецидива ТП в остром периоде после РЧА, показанная нами, значимо не отличается от общеевропейских показателей [2], и соответствует данным [5] для мануально контролируемой абляции, однако авторами показано уменьшение их частоты при роботизированной РЧА КТИ. Mesquita J. с соавт. [9] описали высокие показатели рецидива обеих аритмий при комбинации ФП и ТП в остром периоде после РЧА, что согласуется с полученными в нашем исследовании результатами.

Kamioka M. с соавт. [7] не получили значимых изменений АД в остром периоде после РЧА ФП. Данные об изменениях уровней АД после РЧА ТП и комбинированной ФП/ТП нами не выявлено.

Показатель снижения ЧСС после РЧА изолированных ФП или ТП в первые 3 месяца соответствуют данным, приведенным исследователями [2-4]. Связь РЧА ФП и комбинированной ФП/ТП с удлинением интервала QTc выявлена нами впервые, хотя Ma N. и соавт. [8] показали связь такого удлинения, однако с риском повторного развития ФП.

Уменьшение передне-заднего размера ПП и ПЖ 3 месяца спустя после РЧА изолированной ФП в нашем исследовании подтверждается данными других авторов [3,4]. Показанная в нашем исследовании позитивная динамика в виде уменьшения КДО и переднезаднего размера ПП у пациентов после изолированной РЧА КТИ, а также негативная динамика в виде увеличения КСО и снижения ФВ ЛЖ после комбинированной РЧА ЛВ и КТИ в литературе не подтверждена. Полученные в результате проведенного исследования данные требуют дальнейшего изучения функциональных показателей и их связи с медикаментозным со-

провождением на отдаленных этапах после РЧА ФП и ТП.

**Выводы.** Рецидивы ФП и ТП в остром послеоперационном периоде наиболее часто наблюдаются у пациентов после комбинированной РЧА ЛВ и КТИ, реже и преимущественно в случае ФП – после РЧА ЛВ, еще более редко при ТП – после РЧА ЛВ, уменьшаясь во всех группах к 3 месяцам наблюдения.

Изолированная ФП после РЧА ассоциируется с увеличением уровней АД и продолжительностью интервала QTc, уменьшением ЧСС и передне-задних размеров ПП и ПЖ; изолированное ТП – ассоциируется с увеличением АД и уменьшением ЧСС, КДО и ПП в первые 3 месяца после процедуры.

У пациентов с комбинированной РЧА ФП и ТП наблюдались увеличение АД, уменьшение ЧСС в остром послеоперационном периоде с дальнейшим его увеличением к 3 месяцам, увеличение продолжительности интервала QTc, КСО и снижение ФВ ЛЖ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Коваленко ВМ, Лутай МІ, Сиренко ЮМ, под редакцией. Серцево-судинні захворювання. Класифікація, стандарти діагностики і лікування кардіологічних хворих. Київ: ПП ВМБ; 2007.
2. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS The Task Force for the management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). Eur J Cardiothorac Surg. 2016 Nov;50(5):e1-e88. Epub 2016 Sep 23.
3. Bai Y, Zhao Y2, Li J, Zhang Y, Bai R, Du X et al. Association of peak atrial longitudinal strain with atrial fibrillation recurrence in patients with chronic lung diseases following radiofrequency ablation. Intern Med J. 2018 Feb 20. [Epub ahead of print].
4. Ghanbari H, Başer K, Jongnarangsin K, Chugh A, Nalla-

- mothu BK, Gillespie BW et al. Mortality and cerebrovascular events after radiofrequency catheter ablation of atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2014 Sep;11(9):1503-11.
5. Hoffmayer KS, Krainski F, Shah S, Hunter J, Alegre M, Hsu JC et al. Randomized controlled trial of Amigo® robotically controlled versus manually controlled ablation of the cavo-tricuspid isthmus using a contact force ablation catheter. *J Interv Card Electrophysiol*. 2018 Mar;51(2):125-132.
6. Joshibayev S, Bolatbekov B. Early and long-term outcomes and quality of life after concomitant mitral valve surgery, left atrial size reduction, and radiofrequency surgical ablation of atrial fibrillation. *Anatol J Cardiol*. 2016 Oct;16(10):797-803.
7. Kamioka M, Hijioaka N, Matsumoto Y, Nodera M, Kaneshiro T, Suzuki H et al. Uncontrolled blood pressure affects atrial remodeling and adverse clinical outcome in paroxysmal atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2018 Feb 15. [Epub ahead of print].
8. Ma N, Wu XY, Ma CS, Liu N, Bai R, Du X et al. QTc interval predicts outcome of catheter ablation in paroxysmal atrial fibrillation patients with type 2 diabetes mellitus. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*. 2016 Oct;36(5):646-652. Epub 2016 Oct 18.
9. Mesquita J, Ferreira AM, Cavaco D, Carmo P, Madeira M, Freitas P et al. Impact of prophylactic cavotricuspid isthmus ablation in atrial fibrillation recurrence after a first pulmonary vein isolation procedure. *Int J Cardiol*. 2018 May 15;259:82-87.
10. Nielsen JC, Johannessen A, Raatikainen P, Hindricks G, Walfridsson H, Pehrson SM et al; MANTRA-PAF Investigators. Long-term efficacy of catheter ablation as first-line therapy for paroxysmal atrial fibrillation: 5-year outcome in a randomised clinical trial. *Heart*. 2017 Mar;103(5):368-376. Epub 2016 Aug 26.
11. Papiashvili G, Tabagari-Bregvadze N, Brugada J. Impact of radiofrequency catheter ablation on health-related quality of life assessed by the SF-36 questionnaire in patients with paroxysmal supraventricular tachycardia. *Georgian medical news*. 2018 Feb;2:54-57.
12. Schiller NB: Invited Chapter: The Practice of Clinical Echocardiography. Book: 2nd Edition, Clinical Decision Making in Endocarditis, Catherine Otto, 2002; p. 451-468.
13. Schnabel R, Pecun L, Engler D, Lucerna M, Sellal JM, Ojeda FM et al. Atrial fibrillation patterns are associated with arrhythmia progression and clinical outcomes. *Heart*. 2018 Mar 17. pii: heartjnl-2017-312569.

## SUMMARY

### FUNCTIONAL PARAMETERS OF BLOOD CIRCULATION IN FIRST THREE MONTHS AFTER RADIOFREQUENCY ABLATION OF ATRIAL FIBRILLATION AND FLUTTER

<sup>1</sup>Brynza M., <sup>2</sup>Bilchenko A., <sup>1</sup>Makharynska E.,  
<sup>1</sup>Shevchuk M., <sup>1</sup>Yabluchansky N.

<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkiv National University; <sup>2</sup>Kharkiv Medical Academy of Post-graduate Education, Ukraine

The purpose of the study was to evaluate functional parameters of blood circulation in first 3 months after radiofrequency ablation of atrial fibrillation and atrial flutter.

The study included 113 patients aged 59.3±10.1 years,

after radiofrequency ablation (RFA) with pulmonary veins isolation (PVI) for atrial fibrillation (AF), RFA of cava-tricuspid isthmus (CTI) for atrial flutter (AFL), or combined RFA PVI and CTI. Presence of arrhythmia recurrence episodes, blood pressure (BP) levels, electrocardiographic and echocardiographic indices were assessed before RFA, in acute postoperative period (3-5 days) and 3 months after RFA in the groups of AF, AFL, and AF/AFL combination.

In acute postoperative period, arrhythmia recurrence of was most often recorded in the AF/AFL group, less often in groups of isolated AF and AFL, 3 months later - the frequency of recurrence decreased in all groups, but the largest remained in group of combined AF/AFL. In first 3 months after RFA of AF a decreased heart rate (HR), right atrium (RA) and ventricle (RV) size, an increased QTc interval duration and BP; after RFA of AFL - a decreased HR, end-diastolic volume (EDV) and RA; and after RFA of AF/AFL - a decreased ejection fraction (EF), an increased BP, QTc interval duration, and the end-systolic volume (EDV) were recorded.

The results showed that effectiveness of RFA of isolated AF and AFL is higher than RFA of combined AF/AFL in the first 3 months after the procedure. Isolated AF and AFL after RFA were associated with BP and QTc interval duration increase, HR, EDV, RA and RV decrease; combined RFA of AF and AFL - with BP, QTc interval duration and ESV increase and left ventricular EF decrease.

**Keywords:** radiofrequency ablation, atrial fibrillation, atrial flutter, functional parameters of blood circulation.

## РЕЗЮМЕ

### ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВО-ОБРАЩЕНИЯ В ПЕРВЫЕ 3 МЕСЯЦА ПОСЛЕ РАДИОЧАСТОТНОЙ АБЛЯЦИИ ФИБРИЛЛЯЦИИ И ТРЕПЕТАНИЯ ПРЕДСЕРДИЙ

<sup>1</sup>Брынза М.С., <sup>2</sup>Бильченко А.В., <sup>1</sup>Махаринская Е.С.,  
<sup>1</sup>Шевчук М.И., <sup>1</sup>Яблучанский Н.И.

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина; <sup>2</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Целью исследования явился анализ функциональных показателей кровообращения в первые 3 месяца после радиочастотной абляции фибрилляции и трепетания предсердий.

В исследование включено 113 пациентов в возрасте 59,3±10,1 лет, после радиочастотной абляции (РЧА) изоляции легочных вен (ЛВ) по поводу фибрилляции предсердий (ФП), РЧА кава-трикуспидального истмуса (КТИ) по поводу трепетания предсердий (ТП) или комбинированной РЧА ЛВ и КТИ. Оценивались: наличие эпизодов рециди-

ვა არითმია, ურავნი არტერიული დავლენის (ად), ელექტროკარდიოგრაფიკული და ეხოკარდიოგრაფიკული პოკაზატელი დო რჩა, ვ აოსტო პოსლეოპერაციონულ პერიოდე (3-5 სუტკი) და 3 მესიქა სუსტა პოსლე რჩა ვ გრუპულაჲ ფი, ტი და კომბინაციი ფი/ტი. ვ აოსტო პოსლეოპერაციონულ პერიოდე რეციდივ არითმიი ნაიბოლე ჩასო რეგისტრიროვალსა ვ გრუპულაჲ ფი/ტი, რეჲ ვ გრუპულაჲ იზოლიროვანულ ფი და ტი, 3 მესიქა სუსტა ჩასოტა რეციდივოვ უმენიქილსა ვო ვსოქ გრუპულაჲ, ანდოკ ნაიბოლესოქ ოსტავალსა ვ გრუპულაჲ კომბინიროვანულ ფი/ტი.

რეზულტატე პოკაზალი, ქო პოკაზატელი ეფექტივოქი რჩა იზოლიროვანულ ფი და ტი ვიქსე, ქემ რჩა კომბინიროვანულ ფი/ტი ვ პერვე 3 მესიქა პოსლე პროცედურე. იზოლიროვანულ ფი და ტი პოსლე რჩა ასოციიროვალსოქ ს უვლიქიქიქ ად და პროდოქტივოქიქ ინტერვალე QTC, უმენიქიქიქ ჩსს, კდო, პი და პჲ; პრი ეტო კომბინიროვანულ რჩა ფი და ტი – ს უვლიქიქიქ ად და პროდოქტივოქიქ ინტერვალე QTC, კსო და სნიჲიქიქიქ ფვ ლეოვო ჲელუდოქკა.

რეზიუმე

სისქლის მიმოქცევის ფუნქციური მახასიათებლები წინაგულეების ფიბრილაციისა და თოროლვის რადიოსისშირული აბლაციიდან პირველ სამ თვეში

<sup>1</sup>მ. ბრინზა, <sup>2</sup>ა. ბილჩენკო, <sup>1</sup>ე. მახარინსკაია, <sup>1</sup>მ. შევჩუკი, <sup>1</sup>ნ. იაბლუჩანსკი

<sup>1</sup>ხარკოვის ე. კარაზინის სახ. ეროვნული უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სისქლის მიმოქცევის ფუნქციური მახასიათებლების შეფასება წინაგულეების ფიბრილაციისა და თოროლვის რადიოსისშირული აბლაციიდან პირველ სამ თვეში.

კვლევაში ჩართული იყო 59,3±10,1 წლის ასაკის 113 პაციენტი ფილტვის ვენების იზოლაციის

რადიოსისშირული აბლაციით წინაგულეების ფიბრილაციის გამო, კავატრიკუსპიდური ისტმუსის რადიოსისშირული აბლაციით წინაგულეების თოროლვის გამო და ფილტვის ვენების და კავატრიკუსპიდური ისტმუსის კომბინირებული რადიოსისშირული აბლაციით. სამივე ჯგუფში შეფასდა: არითმიის რეციდივის ეპიზოდების არსებობა, არტერიული წნევის მაჩვენებლები, ელექტროკარდიოგრაფიული და ექოკარდიოგრაფიული მაჩვენებლები რადიოსისშირულ აბლაციამდე, მწვავე პოსტოპერაციულ პერიოდში (მე-3-5 დღე) და სამი თვის შემდეგ რადიოსისშირული აბლაციიდან.

მწვავე პოსტოპერაციულ პერიოდში არითმიის რეციდივი ყველაზე ხშირად დარეგისტრირდა ჯგუფში წინაგულეების და კავატრიკუსპიდური ისტმუსის რადიოსისშირული აბლაციით, უფრო იშვიათად – იზოლირებულად წინაგულეების ფიბრილაციის და კავატრიკუსპიდური ისტმუსის რადიოსისშირული აბლაციით; სამი თვის შემდეგ რეციდივის სიხშირე ყველა ჯგუფში შემცირდა, თუმცა ყველაზე მაღალი დარჩა კომბინირებულ ჯგუფში.

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ რადიოსისშირული აბლაციის ეფექტურობა პროცედურიდან პირველი სამი თვის განმავლობაში წინაგულეების და კავატრიკუსპიდური ისტმუსის იზოლირებული ფიბრილაციის დროს მეტია, ვიდრე კომბინირებული ფორმის დროს. წინაგულეების და კავატრიკუსპიდური ისტმუსის იზოლირებული ფიბრილაციის რადიოსისშირული აბლაცია ასოცირდება არტერიული წნევის და QTC ინტერვალის ხანგრძლივობის მატებასთან, გულის ცემის, მარჯვენა წინაგულის და მარჯვენა პარკუჭის შეკუმშვის სიხშირის, საბოლოო დიასტოლური მოცულობის შემცირებასთან; ამასთან, კომბინირებული რადიოსისშირული აბლაცია ასოცირდება უფრო მაღალ არტერიულ წნევასთან, QTC ინტერვალის ხანგრძლივობის და საბოლოო სისტოლური მოცულობის მატებასთან, მარცხენა პარკუჭის განდევნის ფრაქციის დაქვეითებასთან.

**PROGNOSTICATION OF CLINICAL OUTCOMES AFTER STEMI:  
THE ROLE OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A**

**<sup>1</sup>Petyunina O., <sup>1</sup>Kopytsya M., <sup>2</sup>Kuznetsov I., <sup>1</sup>Vyshnevskaya I.**

*<sup>1</sup>Government institution “L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of medical science of Ukraine”, Department of prevention and treatment of emergency conditions, Kharkiv; <sup>2</sup>Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Department of cardiology and functional diagnostic Ukraine*

Important role in reparation processes in acute myocardial infarction (AMI) belongs to angiogenesis – formation

of new capillary vessels, targeted at decrease of harmful effects of ischemia, separation of necrosis area, structural

reorganization of cardiac muscle. Key regulator of angiogenesis is vascular endothelial growth factor (VEGF-A) – a dimeric glycoprotein which belongs to VEGF family (A, B, C, D, E, F, placental growth factor). VEGF-A is produced by endothelial cells, smooth muscle cells of vessels, macrophages, cardiac fibroblasts, lymphocytes, polymorphous nuclear cells, and platelets. Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) expression is dependent of hypoxia, including hypoxia-induced factor HIF-1, proangiogenic factors (EGF, PDGF, FGF, IL-1-beta), angiotensin II, endotoxin, high level of glucose, IL-6, IL-8, IL-10, medium pH, oxygen concentration; its production is enhanced in platelet aggregation, myocardial stretching of the left ventricle. (VEGF-A) is a promoter of formation of collaterals in ischemic myocardium and exerts positive effect on revascularization via the following mechanisms: selective mitogenic effect on endotheliocytes, stimulation of expression of vascular endothelial cells, their proliferation, regeneration, increase of vascular permeability, vasodilation via regulation of NO-synthase and prostacyclin, apoptosis inhibition, production of matrix metal proteinases, stimulation of von Willebrand factor and thrombogenesis [4,7,12].

Change of plasma or serum VEGF levels in patients with AMI, compared to healthy individuals varies from increase [9,11,13,18,21] to decreased values [10,19] or absence of any changes [1]. In majority of studies, VEGF level in AMI after percutaneous coronary intervention (PCI) reached maximum values on day 8-15 [2,9,21], which conforms to initiation of angiogenesis [2]. The data pertinent to VEGF role in acute myocardial infarction for prediction of cardiovascular events in after-infarction period are ambiguous – association with unfavorable prognosis was identified both in high VEGF value in AMI patients [8], and in low protein levels; determinants of relationship between low VEGF level in ST-elevation myocardial infarction (STEMI) patients and high rate of repeated cardiovascular events after myocardial infarction are poorly studied [2,19,30].

The aim of research was investigation of association between VEGF-A level in STEMI patients and development of repeated coronary events within 6-month follow-up and determination of the factors influencing this relationship.

**Material and methods.** 62 patients with STEMI, 51 (82.3%) male and 11 (17.7%) female, at the average age  $58,63 \pm 8,90$  years were enrolled to the study. Control group consisted of 12 persons comparable of age and sex. Patients were hospitalized in 2016-2017 to the Department of prevention and treatment of emergency conditions of Government institution “L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of medical science of Ukraine” after selective coronarangiography (SCAG) with stenting of infarct-related artery (bare-metal coronary stent was used), were performed in the Institute of general and emergency surgery n.a. V.T. Zaitsev and Kharkiv Regional Hospital.

STEMI diagnosis was based on clinical, electrocardiographic, biochemical researches data, according to ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation (2017). Valvular heart disease, acute and chronic infections, oncological pathology, comorbid diseases (anemia, chronic obstructive pulmonary disease, chronic hepatitis, hepatic cirrhosis, renal insufficiency) were excluded from the study.

#### *Ethical declaration*

Research was performed due to Helsinki Declaration; the protocol was approved by local ethics committee of GI “National Institute of therapy n.a. L.T.Malaya NAMS Ukraine” (protocol №8, 29.08.2016). Informed consent was obtained from each patient.

#### *Therapy of STEMI*

The method of revascularization were divided as next: 36 (58.1%) patients were undergo primary coronary intervention (PCI) using bare-metal coronary stent, 15 (24.2%) – thrombolysis with further PCI during 24 hours, 3 (4.8%) – only thrombolysis, 8 (12.9%) patients refused from intervention by personal reasons. Thrombolytic therapy performed by tenecteplase, 50mg or alteplase, 50mg. All patients were treated by existing recommendations: enoxaparine in treating dose 0.1mg/kg BID, aspirin-cardio (enteric coated) 100mg QD, clopidogrel hydrogen sulphate tablets 75mg QD or ticagrelor 90mg BID, rozuvasatin 40mg or atorvastatin 40-80mg QD, metoprolol-succinate 12.5-50 mg QD.

#### *SYNTAX score calculation*

SYNTAX score (SS) was used to assess the severity of coronary atherosclerotic lesions and was calculated for all PCI-patients by experienced interventional cardiologist. SS was determined for all coronary lesions >50% diameter stenosis in a vessel >1.5mm based on SS calculator ([www.syntaxscore.com](http://www.syntaxscore.com)). All the patients were divided by the SS level on 3 subgroups – high SS>32 - 2 patients, average SS  $22 < n \leq 32$  - 17, low SS  $\leq 22$  - 32.

*Echocardiography.* Echo-CG was performed on “Medison Sono Ace X6” device (Korea) with usage of sensor with ultrasound frequency of 3,5 MHz during first 24 hours from hospitalization. Left ventricular end diastolic volume (LV EDV), left ventricular end systolic volume (LV ESV), left ventricular end diastolic and end systolic diameters (LV EDD, LV ESD), left ventricular myocardial mass (LVMM), left ventricular ejection fraction (LVEF), diastolic dysfunction – maximal rate of early diastolic filling E (m/sec), maximal rate of left atrium diastolic rate A (m/sec), their ratio - E/A were estimated.

#### *Risk factors and comorbid pathology*

Hypercholesterolemia (HCE) diagnosed when total cholesterol (TC) was more then 5,2 mmol/l, and/or low density lipoprotein cholesterol (LDL) > 3,0 mmol/l, and/or triglycerides (TG) > 1,7 mmol/l accordantly with European Cardiology Society dyslipidemia guidelines, 2016. Arterial hypertension (AH) was diagnosed if systolic



blood pressure (SBP) was >140 mm Hg, and/or diastolic blood pressure (DBP) >90 mm Hg according to European guidelines on diagnostics and treatment of AH, 2013.

*Anxiety and depression*

The level of anxiety during 10-14 days before STEMI estimated due to Taylor questionnaire. High level of anxiety was consistent with less or equal 14 balls, high level – more than 14 balls [16]. Together with Taylor questionnaire, Heart Anxiety and Depression Scale (HADS) were used to diagnose anxiety and depression: 0-7 balls – low level, 8-10 – borderline, 11-21 – high [25].

*End points*

Repeated coronary events (after infarction angina) during the 6-month observation period were estimated and diagnosed in 9 (14.5%) patients.

*Biochemical research*

Troponin I (Tn I) level measuring performed with chemiluminescent immunoassay, creatine kinase (CK), MB-fraction of creatine kinase (MB-CK), total cholesterol (TC) and its fractions – by fermentative method. Blood research was done at baseline. VEGF-A level determined by enzyme-linked immunosorbent assay with reagents of IBL INTERNATIONAL GMBH, Germany (standart concentrations range 0.0-1000 pg/ml, serum control: Low – 100-200, High – 600-1200 pg/ml) in the laboratory of immune-chemical and molecular-genetic researches of GI “L.T.Malaya Therapy National Institute of NAMS Ukraine”. Serum VEGF-A level measured at 7<sup>th</sup> day of STEMI: in the main group it was equal 160.33 [83.82 – 299.62] pg/ml, in the control group – 112.30 [75.45-164.65] pg/ml (P=0.05).

*Statistical analysis.*

Statistical data processing was performed with programs Statistica 8.0 (Stat Soft Inc, USA), median (Me)

with upper (UQ) and low quartiles (LQ). Standart deviation for normal distribution – moda (Mo) and interquartile range for abnormal distribution. Method ANOVA with Mann-Withney U-criterion and Wald-Wolfowitz  $\chi^2$ - criterion were used for intergroup differences. For all types of analysis, all differences were considered statistically significant with P<0.05. Univariate and multivariate logistic statistical analyses were used. The group with repeated coronary events pointed as 1, without events– 0, cut-off point with VEGF-A were found.

**Results and their discussion.** Groups with repeated coronary events and without them after the 6-month observation period were allocated. The first group represented 9 patients (14.5%), among them unstable angina was in 2 cases, stable angina of III class – in 6. The second group consisted from 53 patients without repeated coronary events in 6 month after STEMI. Comparison results of frequencies of risk factors (sex, age, AH, DM, HCE, complicated heredity, anxiety-depressive disorders - ADD) showed the absence of reliable differences between patients of group 1 and 2 (Table 1).

Results of comparison between groups with repeated coronary events after 6-month observation period and without them were represented in tables 1-4. Data were analyzed on baseline. Localization of STEMI (anterior, posterior, other), heart failure (Killip), amount of damaged coronary vessels (1, 2 or 3), SYNTAX score, hemodynamic parameters (SBP, DBP, HR, LVEF), biochemical data (CK, MB-CK, Troponin I, TC and its fractions), therapy had no significant differences. Together with these data, VEGF-A level was significantly less in patients from group 1: 83.82 [49.14-162.26] pg/ml versus 194.10 [102.54-327.30] pg/ml accordantly, P=0.049.

Table 1. Characteristic of STEMI patients on baseline depending on risk factors

Data	General group (n=62)	Group 1 (n=9)	Group 2 (n=53)	$\chi^2$ , M-U P
Age	58.63±8.90	56.25±7.78	59.15±7.52	p=0.291
Male, n (%)	51 (82.3 %)	7 (77.8 %)	44 (83.0 %)	0.01 p=0.927
AH, n (%)	52 (83.9 %)	8 (88.9 %)	44 (83.0 %)	0.01 p=0.962
DM, n (%)	16 (25.8 %)	4 (44.4 %)	12 (22.6 %)	0.94 p=0.332
BMI, kg/m <sup>2</sup>	29.04±3.86	28.59±5.17	29.11±3.64	p=0.803
HCE, n (%)	42 (67.7 %)	7 (77.8 %)	35 (66.0 %)	0.10 p=0.756
Smoking, n (%)	22 (35.5 %)	2 (22.2 %)	20 (37.7 %)	0.27 p=0.601
Heredity, CAD, n (%)	42 (67.7 %)	6 (66.7 %)	36 (67.9 %)	0.10 p=0.756
Anxiety, Taylor, n (%)	58 (93.5 %)	9 (100 %)	49 (75.5 %)	0.01 p=0.906
Anxiety balls, Taylor	15.4 [6.0-26.0]	16,0 [6.0-24.0]	11,0 [8.0-16.0]	p=0.242
Anxiety, HADS, n (%)	59 (95.2 %)	8 (88.9 %)	51 (96.2 %)	0.01 p=0.914
Anxiety, balls, HADS	6.0 [3.0-9.0]	3.5 [2.0-9.5]	6.0 [4.0-8.0]	p=0.400
Depression, HADS, n (%)	59 (95.2 %)	8 (88.9 %)	51 (96.2 %)	0.01 p=0.914
Depression, balls (HADS)	5.0 [3.0-8.0]	3.0 [1.5-7.0]	5.0 [3.0-8.0]	p=0.268

AH – arterial hypertension; BMI – body mass index; DM – diabetes mellitus; BMI – body mass index; CAD – coronary artery disease; HADS – heart anxiety and depression scale; HCE – hypercholesterolemia

Table 2. Hemodynamic of STEMI patients on baseline

Data	General group (n=62)	Group 1 (n=9)	Group 2 (n=53)	$\chi^2$ , M-U P
STEMI localization				
Anterior	25 (40.3 %)	1 (11.1 %)	24 (45.3 %)	2.45 p=0.118
Posterior	23 (37.1 %)	7 (77.8 %)	16 (30.2 %)	5.57 p=0.018
Other	14 (22.6 %)	1 (11.1 %)	13 (25.5 %)	0.21 p=0.646
SYNTAX score, balls	24.5±7.4	24.8±6.4	23.9±5.9	0.677
Heart failure, Killip				
I	46 (74.2 %)	8 (88.0 %)	38 (71.7 %)	0.46 p=0.498
II	16 (25.8 %)	1 (11.1 %)	15 (28.3 %)	0.46 p=0.498
Damaged coronary vessels (SCAG)				
One	25 (40.3 %)	1 (11.1 %)	24 (45.3 %)	2.45 p=0.118
Two	14 (22.6 %)	3 (33.3 %)	11 (20.7 %)	0.36 p=0.549
Three	23 (37.1 %)	5 (55.6 %)	18 (34.0 %)	0.5 p=0.386
Hemodynamic				
SBP, mm Hg	137.32±24.03	126.11±24.97	139.23±23.58	0.147
DBP, mm Hg	82.00±12.81	78.89±13.64	83.53±12.72	0.407
HR, per 1 min.	78.66±15.69	82.22±12.94	78.01±16.14	0.322
LV EF, %	53.25±8.00	52.79±8.22	55.89±6.33	0.304

DBP – diastolic blood pressure; HR – heart rate; LV EF – left ventricular ejection fraction;  
SBP – systolic blood pressure

Table 3. Biochemical data of STEMI patients on baseline

Data	General group (n=62)	Group 1 (n=9)	Group 2 (n=53)	$\chi^2$ , M-U P
CK, mmol/l	924.00 [432.60-2427.80]	473.60 [231.20-2209.10]	937.10 [432.60-2427.80]	0.313
MB-CK, mmol/l	106.35 [41.00-300.10]	113.55 [40.35-142.60]	105.85 [41.00-300.30]	0.616
Troponin I, ng/ml	21.15 [8.93-124.00]	12.74 [4.07-75.50]	27.05 [10.31-126.50]	0.429
TC, mmol/l	4.95 [4.14-5.55]	4.82 [4.63-5.84]	5.00 [4.14-5.50]	0.719
LDL, mmol/l	3.17 [2.21-3.42]	3.24 [3.08-4.12]	3.00 [2.21-3.38]	0.290
HDL, mmol/l	1.24 [1.00-1.31]	1.04 [0.95-1.10]	1.16 [0.98-1.21]	0.503
Triglycerides, mmol/l	1.68 [1.17-2.15]	1.71 [1.36-1.82]	1.65 [1.10-2.15]	0.849
VEGF-A, pg/ml	160.33 [83.82-299.62]	83.82 [49.14-162.26]	194.10 [102.54-327.30]	0.049

CK – creatine kinase; HDL – high density lipoprotein; LDL – low density lipoprotein; TC – total cholesterol

Table 4. Treatment of STEMI patients on baseline

Data	General group (n=62)	Group 1 (n=9)	Group 2 (n=53)	$\chi^2$ , M-U P
PCI	36 (58.1 %)	4 (44.4 %)	32 (60.4 %)	0.28 p=0.596
TLT and PCI	15 (24.2 %)	2 (22.2 %)	13 (24.5 %)	0.07 p=0.786
TLT	3 (4.8 %)	1 (11.1 %)	2 (3.8 %)	0.01 p=0.091
Without revascularization	8 (12.9 %)	2 (22.2 %)	6 (11.3 %)	0.13 p=0.716
Enoxaparin	46 (74.2%)	4 (44.4%)	42 (79.2%)	3.22 p=0.073
ACEi	59 (95.2%)	9 (100%)	50 (94.3)	0.01 p=0.914
$\beta$ -blockers	54 (87.1%)	8 (88.9%)	46 (86.8%)	0.13 p=0.716
Statins	60 (96.8%)	9 (100%)	51 (96.2%)	0.18 p=0.669

ACEi – angiotensin converting enzyme inhibitors; PCI - percutaneous cardiac intervention;  
TLT – thrombolytic therapy

Table 5. Uni- and multivariate logistic regression analysis of influencing factors on the VEGF- level

Data	$\beta$ -coefficient	OR	95% CI	P
Univariate logistic analysis ( $\chi^2=30.53$ ; $p=0.03$ )				
Sex	4.277	6.993	0.12 – 14.765	0.431
Age	0.090	1.095	0.751 – 1.595	0.637
AH	-19.896	0.0000	-	0.992
Heredity, CAD	1.635	5.133	0.013 – 17.941	0.593
DM	-5.105	0.006	0.000 – 2.015	0.338
BMI, kg/m <sup>2</sup>	0.155	1.167	0.715 – 1.905	0.536
Smoking	3.819	5.574	0.156 – 13.291	0.187
Anxiety (HADS)	-0.274	0.761	0.306 – 1.876	0.553
Anxiety (Taylor)	-0.357	0.700	0.428 – 1.144	0.155
Depression (HADS)	-0.121	0.887	0.504 – 1.560	0.676
Hb, g/l	0.0005	1.001	0.797 – 1.256	0.997
Glucose, mmol/l	0.028	1.029	0.625 – 1.695	0.911
Creatinine, $\mu$ mol/l	-0.048	0.954	0.861 – 1.056	0.361
CrCl, Cockcroft-Gault	-0.053	0.949	0.780 – 1.153	0.596
TC, mmol/l	0.418	1.519	0.116 – 19.845	0.750
LV EDV, ml	-0.038	0.963	0.870 – 1.065	0.460
LV EDD, cm	0.089	1.093	0.895 – 1.335	0.383
LVM, g	0.002	1.002	0.972 – 1.033	0.899
Multivariate logistic analysis ( $\chi^2=17.84$ ; $p=0.001$ )				
Anxiety (Taylor)	-0.181	0.834	0.726 – 0.959	0.0107
Depression (HADS)	-0.299	0.741	0.535 – 1.027	0.0519

CrCl – creatinine clearance; LV EDD – left ventricular end diastolic diameter;  
LV EDV – left ventricular end diastolic volume; LVM – left ventricular mass

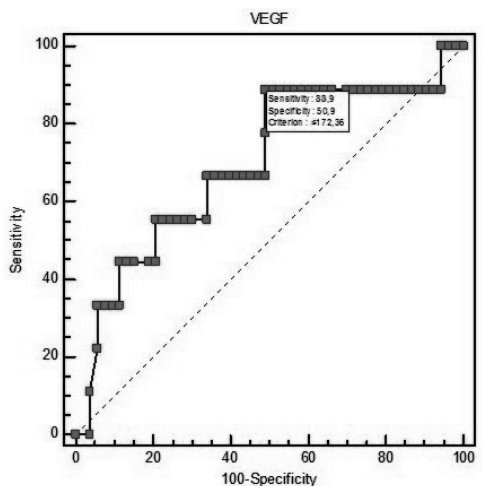


Fig. 1. ROC-analysis for VEGF-A level in STEMI patients

ROC-analysis was performed to find VEGF-A level which prognoses repeated coronary events after 6-month observation period after STEMI. We found that cut-off VEGF-A level  $\leq 172.4$  pg/ml on the 7<sup>th</sup> day of index event (area under curve (AUC) 0.697, sensitivity was 88.9% and specificity was 50.9%; 95% CI 0.567-0.807,  $P=0.0515$ ) was effective for differentiation STEMI patients from those without and with unfavorable

prognosis of repeated coronary events (Fig. 1). Uni- and multivariate logistic analysis performed for identification of factors influenced on VEGF-A level, Table 5.

Association between anxiety and depression levels increase and VEGF-A level decrease in patients with STEMI was revealed (anxiety (Taylor): OR 0.834, 95% CI 0.726 – 0.959,  $P=0.0107$ ; depression (HADS): OR 0.741, 95% CI 0.535 – 1.027,  $P=0.0519$ ).

Our study has identified that threshold VEGF-A level  $\leq 172.4$  pg/ml is predictive of repeated coronary events. Performed evaluation of risk factors capable to influence their occurrence within 6-month follow-up after STEMI has shown that the increased level of anxiety and depression was associated with decreased VEGF-A level and, accordingly, can be predictive of repeated coronary events.

Evidences of the fact that decreased VEGF-A level is an independent prognostic factor of repeated coronary complications were obtained in other studies as well. Thus, J. Niu et al., 2016, measured VEGF level on day 7 after MI, and groups with low and high (less and more than 190 ng/ml) median VEGF-A levels were isolated. Repeated examinations were carried out every 2 monthases during a year; MACEs (Major Adverse Cardiovascular Events) were registered, which included cardiovascular death, cardiac failure, severe arrhythmias, cardiogenic shock and postinfarction

angina. Within 6 months, MACE rate in a group with high VEGF-A level was considerably lower than in the group with high cytokine level. Accordingly, VEGF-A concentration on a group of patients without MACE was much higher than in the group with presence of MACE. Multifactorial regression analysis has shown that the decrease of VEGF-A level is an independent MACE risk factor; its high value on AMI day 7 of is indicative of long-term positive prognosis [15]. Matsudaira K., et al., 2012, examined 879 patients with AMI after a successful percutaneous coronary intervention within the scope of a prospective multicenter study NAMIS (Nagoya Acute Myocardial Infarction Study). In accordance with tertiles of VEGF-A level measured on day 7 of AMI, 3 groups were isolated, in which major adverse cardiac and cerebral events were registered within 6 months – cardiac death, repeated acute coronary syndrome, hospitalization due to cardiac failure, strokes. Compared to “medium” tertile, patients from “low” tertile had much higher MACE risk. The authors believe that low VEGF-A level in day 7 after AMI is associated with considerable increase of the risk of MACE within 6 months [12].

Unlike the previous authors, Ramos et al., 2014, identified that VEGF-A level in patients with AMI was lower than in healthy individuals at admission; it was elevated for 1 month and remained persistently elevated for up to 1 year of follow-up. Nevertheless, this study has shown as well that the decrease of VEGF-A level to  $<40.8$  pg/ml promoted the increased risk of MACE for 5 years. The obtained results reflected the positive role of VEGF-A in restoration of cardiac blood flow and confirmed its importance in prediction [19].

Psychological stress is known to be involved in development and progression of cardiovascular diseases. Thus, study INTERHEART conducted in 52 countries of the world, anxiety and depression are ranked third among MI risk factors [29]. Doering et al., 2010, have demonstrated that the presence of anxiety and depression were predictors of all-cause mortality in patients with coronary heart disease [19]. Versteeg H. et al. [26] have shown that depression was independently associated with increased risk of all-cause mortality within 5 years in patients with coronary artery disease (CAD). In a study by Beach S.R. et al. [3] high level of depression according to Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) was reliably associated with repeated hospitalization after 6 months in patients with acute coronary syndrome, cardiac failure, or arrhythmia.

Mechanisms involving association between anxiety and depressive disorders (ADD) and cardiovascular diseases are complex and take into account both behavioral and physiological factors: smoking, lifestyle lacking movement, obesity, as well as increased platelet aggregation, blood pressure, decreased sensitivity to insulin and affection of endothelial function [22,23]. In recent years, evidence base of VEGF-A involvement in pathogenesis of cerebrovascular pathology, in particular, ADD, has increased [20]. VEGF-A is known to be involved in such processes in central nervous system as ontogenetic development of nervous system, which includes the processes

of migration, differentiation, synaptogenesis, myelination, neuroprotection, stimulation of neurogenesis in adult age, post-ischemic restoration of brain tissues and vessels, stimulation of memory formation mechanisms. VEGF-A takes part in all phases of neuro- and angiogenesis: formation of blood vessels de-novo from mesenchymal stem cells, formation of new capillaries, dilation of arteriolar anastomoses, and also exerts direct neurotrophic and neuroprotective properties. Thus, the role of VEGF in pathogenesis of cerebrovascular pathology, including anxiety-depressive disorders, consists in combination of angio- and neurotrophic activity.

VEGF-A level increase was identified in patients with major depression [6,14,24,27], the relationship between depression and VEGF-A is confirmed by the fact that the cytokine stimulates neurogenesis caused by antidepressants [289]. Patients with CAD and co-morbid depression showed higher levels of VEGF-A, C-reactive protein, expression of IL-6 gene and decrease of cortisol level, which reflects the increase of immune-inflammatory activity [16]. It is worth mentioning that, in these studies, patients with major depression were somatically healthy, and CAD patients had persistent disease course. Nevertheless, in acute experimental ischemia associated with activation of free radical oxidation, psychological stress was associated with decreased expression of VEGF-A and its signal molecules (P44/P42, MAPK, Akt), decreased neovascularization at macro- and microvascular levels, and oxidative stress activation in ischemic tissue [15]. Thus, the increase of anxiety and depression level in patients with MI with EST was associated with considerably lower VEGF-A values, which is indicative of insufficiency of myocardial neovascularization, and makes certain contribution into development of coronary events.

**Conclusions.** 1. VEGF-A level less than  $\leq 172.4$  pg/ml at 7th day of STEMI allows predicting repeated coronary events in 6-month observation with sensitivity of 88.9% and specificity 50.9%.

2. Anxiety and depression before STEMI influenced on VEGF-A level (anxiety (Taylor): OR 0.834, 95% CI 0.726 – 0.959,  $P=0.0107$ ; depression (HADS): OR 0.741, 95% CI 0.535 – 1.027,  $P=0.0519$ ) and possibly associated with afterinfarction angina.

**Acknowledgements.** There are no previous presentations of the information reported in the article. We thank Nataliia Tytarenko for ultrasound diagnostic, Igor Polivenok – for cardiac interventions, Galina Bugrimenko - for her excellent technical assistance. Permission to acknowledge has been obtained.

## REFERENCES

1. Alber HF, Frick M, Dulak J, Dörler J, Zwick R-H, Dichtl W, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) plasma concentrations in coronary artery disease // *Heart*. 2005; 91(3): 365-6.
2. Atsudaira K, Maeda K, Okumura N, Yoshikawa D, Morita Y, Mitsuhashi H, et al. Impact of low levels of vascular endothelial growth factor after myocardial infarction on 6-month outcome.



Results from Nagoya Acute Myocardial Infarction Study // *Circ J*. 2012; 76:1509-16.

3. Beach SR., Januzzi JL, Mastromauro CA, Healy BC, Beale EE, Celano CM, et al. Patient Health Questionnaire-9 score and adverse cardiac outcomes in patients hospitalized for acute cardiac disease // *J Psychosom Res*. 2013; Nov; 75(5): 409-13.

4. Berezin AE Predictive role of circulating vascular endothelial growth factor-1 in patients with cardiovascular diseases // *J Dis Markers*. 2014; 1(3): id1013.

5. Doering LV, Moser DK, Riegel B, McKinley S, Davidson P, Baker H, et al. Persistent comorbid symptoms of depression and anxiety predict mortality in heart disease // *Int J Cardiol*. 2010; Nov, 19; 145(2): 188-92.

6. Elfving B, Buttenschen HN, Foldager L, Poulsen PH, Grynderup MB, Hansen ÅM et al. Depression and BMI influences the serum vascular endothelial growth factor level // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2014; Sep; 17(9): 1409-1412.

7. Ferrara N Vascular endothelial growth factor // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29(6):789-91.

8. Heesch C, Dimmeler S, Hamm CW, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML, et al. Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndromes // *Circulation* 2003; 107(4):524-30.

9. Hojo Y, Ikeda U, Zhu Y, Okada M, Ueno S, Arakawa H, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in patients with acute myocardial infarction // *J Am Coll Cardiol*. -2000; Mar 15; 35(4): 968-73.

10. Kim BH, Ko Y, Her A, Kim JS, Hwang KC, Dong Ho Shin, et al. Serial plasma levels of angiogenic factors in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention // *Korean Circulation J*. 2012; Jul; 42(7):464-70.

11. Korybalska K, Pyda M, Kawka E, Lesiak M, Książek K, Bręborowicz A, et al. Interpretation of elevated serum VEGF concentration in patients with myocardial infarction // *Cytokine*. 2011; Sept, 6; 54(1): 74-8.

12. Koval S. M., Misnichenko O.V., Snigurka I. O., Visotska O. V., Tsigankov O. I., et al. Activator angiogenesis and sertsevo-sudinykh zahvoryovan. Result vivchennya rivniv vaskuloendotelialnogo factory rosty ta angiotetinu-2 y krovni hvorih na hipertensivnu hvorobu // *Arterial hypertension*. - 2016. - N 6. - P. 51-56.

13. Kranz A, Rau C, Kochs M, Waltenberger J Elevation of vascular endothelial growth factor-A serum levels following acute myocardial infarction. Evidence for its origin and functional significance // *JMol Cell Cardiol*. 2000; Jan; 32(1): 65-72.

14. Lee BH, Kim YK Increased plasma VEGF levels in major depressive or manic episodes in patients with mood disorders // *J Affect Disord*. 2012; 136: 181-184.

15. Maingrette F, Dussault S, Dhahri W, Desjarlais M, Mathieu R, Turgeon J, et al. Psychological stress impairs ischemia-induced neovascularization: protective effect of fluoxetine // *Atherosclerosis*. 2015; Aug; 241(2): 569-578.

16. Nikkheslat N, Zunsain PA, Horowitz MA, Barbosa IG, Parker JA, Myint A-M, et al. Insufficient glucocorticoid signaling and elevated inflammation in coronary artery disease patients with comorbid depression // *Brain Behave Immun*. 2015; Aug; 48: 8-18.

17. Niu J, Han X, Qi H, Yin J, Zhang Zhiq, Zhang Zen, et al. Correlation between vascular endothelial growth factor and long-term prognosis in patients with acute myocardial infarction // *Exp and Ther Med*. 2016; April, 21; 12(1):475-479.

18. Ogawa H, Suefuji H, Soejima H, Nishiyama K, Misumi K, Takazoe K, et al. Increased blood vascular endothelial growth factor levels in patients with acute myocardial infarction // *Cardiology*. 2000; 93(1-2): 93-9.

19. Ramos K, Napoleao P, Selas M, Freixo C, Viegas Crespo

AM, Carmo MM, et al. Prognostic value of VEGF in patients submitted to percutaneous coronary intervention. Hindawi Publishing Corporation. 2014; Article ID: 135357, 7.

20. Roslavtseva VV, Salmina AB, Prokopenko SV, Pozhilenkova EA, Kobanenko IV, Reznitskaya GG. The role of vascular endothelial growth factor in the regulation of development and functioning of the brain: new target molecules for pharmacotherapy // *Biomed Khim*. 2016 Mar-Apr; 62(2):124-33.

21. Shimokawahara H, Jougasaki M, Setoguchi M, Ichiki T, Sonoda M, Nuruki N, et al. Relationships between vascular endothelial growth factor and left ventricular dimension in patients with acute myocardial infarction // *J Cardiol*. 2014; Nov; 64(5): 360-65.

22. Sotelo JL, Nemeroff CB Depression as a systemic disease // *Personalized medicine in psychiatry*. 2017; 1-2:11-25.

23. Stepoe A, Kivimaki M. Stress and cardiovascular disease // *Nat Rev Cardiol*. 2012; 9(6): 360-70.

24. Takebayashi M, Hashimoto R, Hisaoka K, Tsuchioka M, Kunugi H Plasma levels of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor 2 in patients with major depressive disorders // *J Neural Transm*. 2010; Sep; 117(9): 1119-22.

25. Taylor JA A Personality Scale of Manifest Anxiety // *J Abnormal and Social Psych*. 1953; 48(2):285-90.

26. Versteeg H, Hoogwegt MT, Hansen TB, Pedersen SS, Zwisler AD, Thygesen LC. Depression, not anxiety, is independently associated with 5-year hospitalization and mortality in patients with ischemic heart disease // *J Psychosom Res*. 2013; Oct, 17; 75(6): 409-13.

27. Wallenstein J, Asberg M, Nygen A, Szulkin R., Wallén H, Mobarrez F Possible biomarkers of chronic stress induced exhaustion – a longitudinal study // *Plos one*. 2016; May, 4; 11(5):e0153924.

28. Warner-Schmidt JL, Dumah RS VEGF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104(11): 4647-52.

29. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanan F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study // *Lancet*. 2004; 364(9438): 937-52.

30. Zhao T., Zhao W., Chen Y., Ahokas RA, Sun Y Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A: role on cardiac angiogenesis following myocardial infarction // *Microvasc Research*. 2010; Sep; 80(2): 188-194.

31. Zigmond AS, Snaith RP The hospital anxiety and depression scale // *Acta Psychiatr Scand*. 1983; 67(6): 361-70.

## SUMMARY

### PROGNOSTICATION OF CLINICAL OUTCOMES AFTER STEMI: THE ROLE OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A

<sup>1</sup>Petyunina O., <sup>1</sup>Kopytsya M., <sup>2</sup>Kuznetsov I., <sup>1</sup>Vyshnevskaya I.

<sup>1</sup>Government institution “L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of medical science of Ukraine”, Department of prevention and treatment of emergency conditions, Kharkiv; <sup>2</sup>Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Department of cardiology and functional diagnostic Ukraine

Aim - to assess the role of Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A), which plays a key role in angiogen-

esis, in prognosis after myocardial infarction. 62 patients with ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI), 51 (82.3%) male and 11 (17.7%) female at average age 58.63±8.90 years and 12 control group patients were enrolled to the study. Serum level of VEGF by enzyme-linked immunosorbent assay was determined. After a 6-month observation period after infarction angina were assessed.

ROC-analysis revealed cut-off level of VEGF-A  $\leq 172.4$  pg/ml was determined on the 7<sup>th</sup> day of STEMI, which had become predictor of repeated coronary events after the 6-month observation period (AUC 0.697, sensitivity was 88,9% and specificity - 50.9%; 95% CI 0.567-0.807, P=0.0515). Multivariate logistic analysis determined that anxiety and depression were assessed with Taylor and HADS questionnaire associated with VEGF-A decrease in patients with STEMI (anxiety: OR 0.834, 95% CI 0.726 – 0.959, P=0.0107; depression: OR 0.741, 95% CI 0.535 – 1.027, P=0.0519).

Anxiety and depression influenced on serum VEGF-A level decrease which indicates the lack of myocardial neovascularization after STEMI and makes a contribution to postinfarction angina development.

**Keywords:** vascular endothelial growth factor-A, STEMI, prognostication.

## РЕЗЮМЕ

### ПРОГНОЗИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИСХОДОВ ПОСЛЕ STEMI: РОЛЬ ВАСКУЛОЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА-A

<sup>1</sup>Петюнина О.В., <sup>1</sup>Копица Н.П., <sup>2</sup>Кузнецов И.В., <sup>1</sup>Вишневская И.Р.

<sup>1</sup>ГУ «Национальный институт терапии им. Л.Т. Малой НАМН Украины», <sup>2</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков, Украина

Цель исследования - определить значимость васкулоэндотелиального фактора роста-A, который играет ключевую роль в ангиогенезе, в прогнозировании повторных событий после перенесенного инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI).

В исследование включено 62 пациента со STEMI, 51 (82,3%) мужчина и 11 (17,7%) женщин, средний возраст 58.63±8.90 лет и 12 пациентов контрольной группы, сопоставимых по возрасту и полу. Уровень васкулоэндотелиального фактора роста-A (ВЭФР) в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом. Спустя 6 месяцев наблюдения оценены повторные коронарные события (постинфарктная стенокардия). Уровень ВЭФР  $\leq 172.4$  пг/мл является предиктором возникновения постинфарктной стенокардии в течение 6 месяцев наблюдения (AUC 0.697, чувствительность - 88,9% и специфичность - 50.9%; 95% ДИ 0.567-0.807, P=0.0515). С помощью мультивариативного логистического анализа выявлено, что тревожность и депрессия, оцененные с помощью опросников Taylor и HADS, ассоциировались со снижением ВЭФР-A после

перенесенного STEMI (тревожность: ОШ 0.834, 95% ДИ 0.726 – 0.959, P=0.0107; депрессия: ОШ 0.741, 95% ДИ 0.535 – 1.027, P=0.0519).

В результате проведенного исследования учтано, что тревожность и депрессия влияют на уровень ВЭФР в сыворотке крови после STEMI, что отображает недостаточную неоваскуляризацию и способствует возникновению постинфарктной стенокардии.

## რეზიუმე

STEMI-ის შემდგომი კლინიკური გამოსავალის პროგნოზირება: ვასკულოენდოთელური ზრდის ფაქტორის როლი

ო. პეტუნიანა, ნ. კოპიცა, ი. კუზნეცოვა, ი. ვიშნევსკაია

სახელმწიფო დაწესებულება “უკრაინის მეცნიერებათა აკადემიის სამედიცინო მეცნიერების ლ. მალაის სახ. ეროვნული თერაპიის ინსტიტუტი”; ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ზრდის ვასკულოენდოთელური ფაქტორის მნიშვნელობის შეფასება განმეორებითი მოვლენების პროგნოზირებაში გადატანილი ინფარქტის შემდგომ პერიოდში.

კვლევაში ჩართული იყო 62 პაციენტი STEMI-ით, 51 (82,3%) მამაკაცი და 11 (17,7%) ქალი, საშუალო ასაკი - 58.63±8.90 წ. საკონტროლო ჯგუფი შეადგინა შესატყვისი ასაკის და სქესის 12 პაციენტმა. ვასკულოენდოთელური A-ზრდის ფაქტორის დონე სისხლის შრატში განისაზღვრა იმუნოფერმენტული მეთოდით. დაკვირვების 6 თვის შემდეგ შეფასებული იყო შემდგომი კორონარული მოვლენები (პოსტინფარქტული სტენოკარდია) ვასკულოენდოთელური A-ზრდის ფაქტორის დონე  $\leq 172.4$  პგ/მლ წარმოადგენს პოსტინფარქტული სტენოკარდიის განვითარების პრედიქტორს (AUC 0.697, მგრძობელობა - 88,9%, სპეციფიურობა - 50,9%, 95% CI 0.567-0.807, P=0.0515). მულტივარიაციული ლოგიკური ანალიზის მეშვეობით გამოვლინდა, რომ შფოთვა და დეპრესია, შეფასებული Taylor და HADS კითხვარის გამოყენებით, ასოცირდება ვასკულოენდოთელური A-ზრდის ფაქტორის დაქვეითებასთან გადატანილი STEMI-ის შემდეგ (შფოთვის მაჩვენებელი OR 0.834, 95% CI 0.726 – 0.959, P=0.0107; დეპრესია: OR 0.741, 95% CI 0.535 – 1.027, P=0.0519).

ჩატარებული კვლევის შედეგად ავტორების მიერ დადგენილია, რომ შფოთვა და დეპრესია ზემოქმედებს ვასკულოენდოთელური A-ზრდის ფაქტორზე STEMI-ის შემდეგ, რაც მიუთითებს არასაკმარის ნეოვასკულარიზაციაზე და ხელს უწყობს ინფარქტის შემდგომი სტენოკარდიის განვითარებას.

## ВЕРОЯТНЫЙ ПРОГРЕССИРУЮЩИЙ СУПРАНУКЛЕАРНЫЙ ПАРАЛИЧ (СИНДРОМ СТИЛА-РИЧАРДСОНА-ОЛЬШЕВСКОГО): КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пинчук В.А., Кривчун А.М., Суббота Л.Ю., Силенко Г.Я., Пинчук В.В.

*Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия»; Полтавская областная клиническая больница им. М.В. Склифосовского, Украина*

Прогрессирующий супрануклеарный паралич (ПСП) (синдром Стила-Ричардсона-Ольшевского) является нейродегенеративным заболеванием, патоморфологически относится к группе таупатий и ошибочно диагностируется на ранних стадиях развития как болезнь Паркинсона [7,8]. ПСП характеризуется преимущественным поражением подкорковых и стволовых структур, проявляется сочетанием быстро прогрессирующего акинетико - ригидного синдрома с постуральной неустойчивостью, глазодвигательными расстройствами, псевдобульбарным синдромом и деменцией подкоркового типа [4,6]. Заболевание быстро прогрессирует и 3-5 лет спустя пациенты оказываются прикованными к постели. Продолжительность жизни составляет после постановки диагноза от 5 до 15 лет. Пациенты погибают от интеркуррентных инфекций, аспирационной пневмонии или апноэ во сне.

Для своевременной диагностики атипичного паркинсонизма важно знать не только позитивные, но и негативные критерии диагностики болезни Паркинсона, чтобы суметь своевременно распознать или, наоборот, исключить ее. Какие же клинические признаки могут заставить сразу сомневаться в диагнозе болезни Паркинсона? Согласно рекомендациям Американской академии неврологии, к таким симптомам относятся: ранние падения, плохой ответ на леводопу, симметричные моторные проявления, отсутствие тремора, ранние признаки периферической вегетативной недостаточности, быстрое прогрессирование [1,5]. При прогрессирующем надъядерном параличе тремор встречается значительно реже, чем при болезни Паркинсона, и, как правило, он менее выражен [20]. Для больных прогрессирующим надъядерным параличом характерна разгибательная поза, а голова слегка наклонена назад, что отличает это заболевание от болезни Паркинсона, для которой характерна сгибательная поза [11,21].

В настоящее время выделяют несколько вариантов прогрессирующего надъядерного паралича, различающихся клинической симптоматикой и патоморфологическими изменениями: классический синдром Ричардсона, ПСП-паркинсонизм, ПСП-неосложненная акинезия с застываниями при ходьбе, ПСП-кортикобазальный синдром, ПСП-афазия [12,22], что еще более усложняет диагностику этого заболевания.

По мнению Эндрю Ларнера, известный писатель Чарльз Диккенс в своей новелле «Ленивое путешествие двух гуляющих подмастерьев» в 1857 году впервые описал пациента, клинически схожего с синдро-

мом Стила-Ричардсона-Ольшевского: «Холодный, медленный, навязчивый человек. Бледный, как труп со сдержанной речью. Старик, который, кажется, не способен моргать, будто его веки прибиты гвоздями ко лбу. Человек, глаза которого, два огненных пятна, полностью неподвижны, как будто их прикрутили шурупами к затылку ... Он зашел, закрыл за собой дверь и сел. Однако, садясь, этот субъект не сгивался вперед, как другие люди, а будто падал в кресло» [18]. Известно также, что как отдельная клинико-патоморфологическая единица ПСП впервые описан американским врачом Д. Клиффордом Ричардсоном в 1963 г. С тех пор заболевание носит его имя вместе с фамилиями резидента Джона Стила и профессора-патолога Ежи Ольшевского [3].

Общая распространенность ПСП составляет примерно 6,5 случаев, а частота колеблется в диапазоне 0,3-1,1 случая на 100 000 населения в год. Если принять во внимание клиническую гетерогенность патологии, ввиду чего много случаев диагностируются с опозданием, в среднем, на 4,7 лет, вышеприведенные цифры, по всей вероятности, занижены [3]. Дебют заболевания отмечается в возрасте 55-70 лет. По некоторым данным, среди пациентов преобладают мужчины [11,12], но Burn D. и Lees A. [10] в аналитическом обзоре считают, что оба пола поражаются одинаково.

Диагностика ПСП базируется на клинических диагностических критериях NINDS-SPSP (Национальный институт неврологических расстройств США и Общество по изучению ПСП) [9], которые демонстрируют высокую чувствительность и специфичность, включая наличие падений в течение первого года болезни и надъядерного расстройства вертикальных движений глаз, необходимого для постановки «вероятного» диагноза.

Патоморфологическое подтверждение остается золотым стандартом и единственным методом постановки «точного диагноза» согласно вышеуказанным критериям. Особые надежды в будущем возлагают на МРТ-спектроскопию и диффузно-взвешенные протонные методы в дифференциальной диагностике ПСП от других нейродегенераций [13,14,16]. Функциональные исследования демонстрируют гипометаболизм в лобных долях мозга больных ПСП, а также пресинаптическую дофаминергическую дегенерацию и ее прогрессирование, хотя эти результаты не являются специфическими и не могут дифференцировать ПСП от других клинических форм патологии [15,17-19].



Клиническая картина характеризуется мультифокальным поражением головного мозга. Наиболее часто в процесс вовлекаются черная субстанция, бледный шар, субталамическое ядро, дорсальные отделы среднего мозга, менее страдают стриатум, ядра моста, мозжечок, лобная кора [2].

Первыми проявлениями ПСП, как правило, оказываются неспецифические симптомы: повышенная утомляемость, снижение настроения, головная боль, головокружение, нарушение сна. Постепенно присоединяются и выходят на первый план основные симптомы: постуральная неустойчивость с частыми падениями, глазодвигательные расстройства (ограничение вертикального и иногда даже горизонтального взгляда, двоение или затуманивание в глазах, связанные с резким снижением частоты моргания и офтальмопарезом, апраксия открывания век, которая способствует функциональной слепоте больного), дизартрия, замедленность движений, псевдобульбарный синдром, когнитивные и поведенческие проблемы [3]. Albert L.M. et al. [9], описывая комплекс когнитивных расстройств при ПСП как «субкортикальную деменцию», указывают на изменения личности в виде апатии и умеренной депрессии. Темп прогрессирования и формирования клинической картины обычно является высоким - в течение 1-3 лет развивается достаточно полный набор симптомов, которые в дальнейшем углубляются по тяжести [3].

Типичный пациент с этим заболеванием имеет характерный вид - с безэмоциональным лицом, резко сниженной частотой моргания глаз, напряжением мышц лба. Однако часто такие больные попадают к врачам на ранних стадиях без развернутого набора симптомов или с нетипичными признаками. ПСП не всегда очевиден при первом клиническом визите и, поэтому, при неясной ситуации пациента лучше наблюдать в динамике, прежде чем ставить диагноз.

Целью данного исследования является привлечь внимание к сложной проблеме дифференциальной диагностики нейродегенеративных заболеваний.

В качестве примера, приводим собственное клиническое наблюдение вероятного ПСП. Пациент Б., 57 лет, находился на обследовании и лечении в неврологическом отделении Полтавской областной клинической больницы им. М.В.Склифосовского 17.01.17 - по 26.01.18 гг. На догоспитальном этапе выставлен диагноз дисциркуляторная энцефалопатия III ст. смешанного генеза (атеросклеротически - гипертоническая).

При госпитализации пациент жаловался на головную боль, эпизоды внезапного падения, иногда головокружение, ухудшение памяти, внимания, изменение почерка, замедление речи.

Из анамнеза известно, что летом 2016 года пациент сломал ребра при падении. Лечился у травматолога по месту жительства. С тех пор постепенно начал отмечать периодическую головную боль, головокружение, ухудшение памяти, на что не обращал внимания.

С лета 2017 г. присоединились такие симптомы как внезапные падения, резко начала ухудшаться память, изменилась речь. Данные терапевтических и хирургических причин падения отсутствуют. Обратился к невропатологу по месту жительства. Осенью 2017 года проходил лечение с диагнозом дисциркуляторная энцефалопатия III ст. В результате проведенного лечения клинического улучшения не отмечалось. Госпитализирован в неврологическое отделение для уточнения диагноза и тактики дальнейшего лечения.

Неврологический статус при обращении: сознание ясное. В пространстве, времени, собственной личности ориентирован. Глазные щели  $S < D$ , зрачки  $D = S$ . Реакция зрачков на свет живая. Нистагма нет. Парез взора вверх, вниз, парез конвергенции обоих глаз. Точки выхода V пары безболезненны. Лицо симметричное, язык отклонен вправо. Рефлекс с задней стенки глотки сохранен. Рефлекс с мягкого неба сохранен. Глотание не нарушено, голос звучный. Речь замедлена, артикуляция языка сохранена. Мышечный тонус повышен по пластическому типу, больше в правых конечностях. Проба Барре отрицательная с 2 сторон. Рефлексы с рук  $D < S$ , средней живости, брюшные рефлексы  $S > D$ , средней живости, коленные рефлексы  $S > D$ , средней живости, ахилловы рефлексы  $D = S$ , средней живости. Субкортикальные знаки (+++). Патологические кистевые знаки отсутствуют. Патологические стопные знаки отсутствуют. Чувствительность сохранена. Мышечная сила в конечностях равна 5 баллам. Координаторные пробы выполняет удовлетворительно. В позе Ромберга пошатывание. Менингеальных знаков нет. Апраксия речи, письма, ходьбы. Умеренная постуральная неустойчивость.

Проведено комплексное параклиническое обследование: общий анализ и глюкоза крови, биохимический анализ крови и общий анализ мочи - без патологии; липидограмма: гиперхолестеринемия, особенно за счет липопротеидов низкой плотности; электрокардиография: ритм синусовый, нормальное положение ЭОС, ЧСС 93 в мин., малая амплитуда зубцов R в avI. Нарушение процессов реполяризации верхушечно-боковой стенки левого желудочка; ультразвуковое исследование экстракраниальных сосудов: нестенозирующее атеросклеротическое поражение брахиоцефальных артерий. Признаки S-образной извитости правой позвоночной артерии с наличием остроугольной деформации в C1-2, C3-4, плавной извитости левой позвоночной артерии, экстравазальной компрессии обеих позвоночных артерий; МРТ головного мозга (от 18.07.2017 г.): боковые желудочки мозга умеренно расширены, резко расширены силвиевы щели, лакунарные щели, глубокие конвекситальные борозды, борозды мозжечка. Ширина арахноидального пространства 7-9-10 мм. Мозолистое тело истончено.

Осмотрен офтальмологом, психиатром. Психический статус оценен с помощью шкал MMSE, тест



рисования часов, МОСА. Выявлены признаки легкой деменции.

Таким образом, согласно критериям диагностики ПСП, у данного пациента выявлены: дебют в возрасте 55-60 лет, офтальмоплегия зрения по вертикали, положительный окулоцефалический рефлекс, ригидность мышц туловища и шеи, частые падения, интеллектуально-мнестические нарушения (легкая деменция, эмоционально-волевая неустойчивость), общеклинические лабораторные исследования крови и мочи не информативны, что позволяет дифференцировать ПСП от дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ); в нейровизуализационной картине ПСП и ДЭ имеются существенные различия. Если для ДЭ характерны мелкие постинфарктные кисты в белом веществе полушарий, подкорковых узлах, мозжечке и лейкоареоз, то при ПСП наблюдаются: атрофия среднего мозга, расширение четверохолмной цистерны; расширение четвертого желудочка; атрофия лобной и височной долей, мозолистого тела. Пациенту выставлен окончательный диагноз вероятный прогрессирующий надъядерный паралич с умеренным акинетико-ригидным синдромом, умеренной постуральной неустойчивостью, параличом вертикального зрения, апраксией речи, письма, ходьбы, легкой деменцией с эмоционально-волевой неустойчивостью. В стационаре больной получил сосудистую и метаболическую терапию. Пациенту рекомендован амбулаторный прием препаратов группы мемантина по схеме и ипидакринов.

Второй клинический случай. Пациент О., 54 года, находился на обследовании и лечении в неврологическом отделении Полтавской областной клинической больницы им. М.В. Склифосовского с 06.02.2018 г. по 16.02.2018 г. На догоспитальном этапе пациенту выставлен диагноз дисциркуляторная энцефалопатия III ст. подкорковый синдром.

При госпитализации пациент предъявлял жалобы на нарушение глотания, речи, двоение в глазах при взгляде вверх, вниз, в стороны, общую скованность, эпизоды внезапного падения, периодическое головокружение, ухудшение памяти, снижение темпа мышления, изменение почерка.

Из анамнеза заболевания известно, что считает себя больным примерно 5 лет. Работал машинистом паровоза, около 10 лет не работает. Заболевание началось с изменения почерка, неустойчивости при ходьбе. В 2014 г. проходил стационарное лечение с диагнозом дисциркуляторная энцефалопатия II ст. От проведенного лечения клинического эффекта не отмечает. Полгода назад появилось нарушение глотания, периодическое двоение в глазах, падение, изменение речи, резко начали ухудшаться память и внимание. Терапевтических и хирургических причин падений не выявлено. С 2014 г. за медицинской помощью не обращался. Госпитализирован в неврологическое отделение для уточнения диагноза и тактики дальнейшего лечения.

Неврологический статус при обращении: сознание ясное. В пространстве, времени, собственной личности ориентирован. Глазные щели  $D < S$ , зрачки сужены,  $D = S$ . Реакция зрачков на свет вялая. Нистагма нет. Тотальная офтальмоплегия. Парез зрения вверх, вниз, в стороны, парез конвергенции обоих глаз. Точки выхода V пары безболезненны с двух сторон. Асимметрия левой носогубной складки, язык отклонен вправо. Рефлекс с задней стенки глотки сохранен. Рефлекс с мягкого неба отсутствует. Дисфония, дисфагия, дизартрия. Хоботковый рефлекс (++++), рефлекс Маринеску-Радовичи (+++), с двух сторон. Мышечный тонус повышен по пластическому типу, больше в правых конечностях. Умеренная постуральная неустойчивость. Проба Баре отрицательная с 2 сторон. Рефлексы с рук  $D=S$ , средней живости, брюшные рефлексы  $D=S$ , средней живости, коленные рефлексы  $S > D$ , торпидные, ахилловы рефлексы резко снижены, без четкой разницы сторон. Патологические кистевые знаки отсутствуют. (+) симптом Бабинского справа. Чувствительность сохранена. Мышечная сила в конечностях равна 5 баллам. Координаторные пробы выполняет с интенцией и дисметрией слева. В позе Ромберга выраженная шаткость. Менингеальных знаков нет. Апраксия речи, письма, ходьбы. Умеренная постуральная неустойчивость. Голова слегка наклонена назад. Микрография.

Проведено комплексное параклиническое обследование: общий анализ и глюкоза крови, биохимический анализ крови и общий анализ мочи - без патологии; липидограмма: повышение показателей общего холестерина, особенно за счет липопротеидов низкой плотности; электрокардиография: ритм синусовый, вертикальное положение ЭОС, ЧСС 90 в мин., признаки гипертрофии левого желудочка; МРТ головного мозга (от 14.09.2017 г.): боковые желудочки мозга умеренно расширены, резко расширены силвиевы щели, лакунарные щели, глубокие конвекситальные борозды, борозды мозжечка. Ширина арахноидального пространства 9-10 мм.

Осмотрен офтальмологом, психиатром. Психический статус оценен с помощью шкал MMSE, тест рисования часов, МОСА. Выявлены признаки деменции выраженной степени.

ПСП от болезни Паркинсона в данном случае отличается ранними падениями, симметричными моторными проявлениями, отсутствием тремора, разгибательной позы, отсутствием явных вегетативных и тазовых нарушений, быстрым прогрессированием.

На основании критериев NINDS-SPSP поставлен диагноз вероятный прогрессирующий супрануклеарный паралич с выраженными глазодвигательными нарушениями (тотальная офтальмоплегия), бульбарно-псевдобульбарным синдромом, умеренным акинетико-ригидным синдромом, выраженной постуральной неустойчивостью, деменцией выраженной степени. В стационаре больной получил сосудистую и метаболиче-

скую терапию. Пациенту рекомендован амбулаторный прием препаратов группы мемантина по схеме, ипидарина, холина альфосцерата, амантадинов.

К сожалению, эффективной патогенетической терапии ПСП в настоящее время не существует.

Среди известных клинических симптомов атипичного паркинсонизма значимое место занимают разнообразные немоторные проявления, лечение которых, как и при болезни Паркинсона, требует применения традиционного симптоматического лечения. В своей лекции В.Л. Голубев детально рассматривает принципы симптоматического лечения данной патологии [1]. При депрессии назначают трициклические антидепрессанты (при отсутствии противопоказаний) или ингибиторы обратного захвата серотонина. Дизартрию компенсируют клоназепамом и логопедическими приемами. Гиперсаливацию можно преодолеть холинолитиками (эффективность не велика), ботулотоксином, перевязкой слюновыделительного протока, пересечением барабанной струны. Тремор действия, в отличие от паркинсонического тремора покоя, лучше откликается на  $\beta$ -адреноблокаторы, гексамидин и клоназепам. При запорах рекомендуют цизаприд, который стимулирует перистальтику, а также форлак, который не метаболизируется, безопасен и не имеет побочных эффектов. При усилении запоров возможна временная комбинация нескольких средств (например, препараты сены, вазелиновое масло, форлак, размягчающие свечи, обильное питье, увеличение объема принимаемой пищи, клизмы). Коррекция болевого синдрома проводится с использованием дофаминергических препаратов, нестероидных противовоспалительных средств и иногда миорелаксантов. Синдром беспокойных ног, в зависимости от его генеза, купируют препаратами леводопы, агонистами дофаминовых рецепторов или клоназепамом. Профузный гипергидроз может потребовать назначения  $\beta$ -адреноблокаторов, холинолитиков или ботулотоксина. Симптомы периферической вегетативной недостаточности в зависимости от их типа (ортостатическая гипотензия, пузырьные нарушения, нарушения сексуальных функций) пытаются уменьшить с помощью традиционных в таких случаях рекомендаций, широко обсуждаемых в литературе. Так, ортостатическая гипотензия может уменьшиться под влиянием мидодрина, фторсодержащих синтетических кортикостероидов; с осторожностью в связи с гиперчувствительностью используют  $\alpha$ -адрено-миметики. Показаны  $\beta$ -адреноблокаторы, кофеин, богатая солью диета и другие средства. Расстройства мочеиспускания могут иметь разное или смешанное происхождение (аденома простаты, ятрогенные нарушения мочеиспускания, периферическая вегетативная недостаточность). Адекватная терапия возможна лишь при уточнении их природы.

Необходимо помнить, что методы нелекарственной реабилитации (кинезиотерапия, психотерапия) спо-

собны значительно оптимизировать эффективность медикаментозной терапии и внести весомый вклад в улучшение качества жизни этих пациентов [1].

На современном этапе диагноз ПСП остается преимущественно клиническим, так как результаты параклинических методов оказываются неоднозначными. Чаще всего таким пациентам ошибочно диагностируют болезнь Паркинсона и дисциркуляторную энцефалопатию. Таким образом, во избежание ошибок и назначения своевременной терапии, лечащему врачу следует обратить внимание на ряд клинических синдромов, характерных для ПСП: постуральная неустойчивость с частыми падениями, глазодвигательные расстройства в виде вертикального пареза взора, акинетико-ригидный синдром, когнитивные расстройства, прогрессирующее течение.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Голубев В.Л. Атипичный паркинсонизм//Медицинский совет.- 2015. -№10. – С.45-49.
2. Валикова Т.А., Алиферова В.М., Пугаченко Н.В., Цырежапова Р.Б., Бичик А.Б. Клинические особенности надъядерного паралича//Бюллетень сибирской медицины. – 3(2). – 2009. – С.78-82.
3. Матвиенко Ю.О. Прогресуючий над'ядерний параліч / Медицина світу [Електронний ресурс]. – 2009. - т.26 – ч.3. – режим доступу до журн.: [www.msvitu.com](http://www.msvitu.com).
4. Московко С.П. Прогресуючий супрануклеарний параліч (синдром steele-richardson-olszewski): описання популяційної когорти хворих / С. П. Московко // Український вісник психоневрології. - 2005. - Т. 13, вип. 4. - С. 25-28. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uvp\\_2005\\_13\\_4\\_10](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uvp_2005_13_4_10).
5. Труфанов Е.А., Суховерская О.Н., Головченко Ю.И. Дифференциальный диагноз паркинсонических синдромов (обзорная статья) // East European Journal of Parkinson's Disease and Movement Disorders. - 2015. - Vol. 1, No. 1. –с.20-44.
6. Ульянова О.В., Скороходов А.П., Белинская В.В. и др. Клинический случай прогрессирующего надъядерного паралича /Прикладные информационные аспекты медицины. – 2014. – т.17.- №1.- С. 193-197.
7. Яхно Н. Н., Захаров В. В., Елкин М. Н. Прогрессирующий надъядерный паралич: клинические, нейропсихологические и электрофизиологические характеристики // Неврол. журнал. — 1997. — № 6. — С. 13–17.
8. Adler C. H. Differential diagnosis of Parkinson's disease // Parkinson's disease and parkinsonian syndromes / The medical clinics of North America. — Vol. 83 (2). — Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1999. — P. 349–367.
9. Albert L. M., Feldman R. G., Willis A. L. The "subcortical dementia" of progressive supranuclear palsy // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. — 1974. — Vol. 37. — P. 121–130.
10. Burn D., Lees A. J. Progressive supranuclear palsy: where are we now? // The Lancet Neurology. - 2002. - Vol. 1 (6). - P. 359–369.
11. Carrilho P. E. M., Barbosa E. R. Progressive supranuclear palsy in a sample of Brazilian population: Clinical features of 16 patients // Arq. Neuropsiquiatr. — 2002. — Vol. 60. — P. 917–922.
12. Characteristics of two distinct clinical phenotypes in pathologically proven Progressive Supranuclear Palsy: Richardson's syndrome and PSPparkinsonism / D.R. Williams, R. de Silva, D.C. Paviour et al. // Brain. – 2005. – Vol. 128, No. 6. – P. 1247- 1258.

13. Federico F., Simone I. L., Lucivero V. et al. Proton magnetic resonans spectroscopy in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. — 1997. — Vol. 62. — P. 239–242.
14. Golbe L. I. Progressive supranuclear palsy // Movement disorders: Neurologic Principles and Practice / Watts R. L., Koller W. C., eds. — New York: McGraw Hill, 1997. — P. 279–298.
15. Hauw J. J., Daniel S. E., Dickson D. et al. Preliminary NINDS neuropathologic criteria for Steele-Richardson-Olszewski syndrome (progressive supranuclear palsy) // Neurology. — 1994. — Vol. 44. — P. 2015–2019.
16. Hutchinson M., Raff U. The use of MRI in diagnosing Parkinson's disease and differentiating it from progressive supra nuclear palsy // Neurology. — 2001. — Vol. 50 (Suppl. 3). — A272.
17. Jellinger K. A., Blancher C. Neuropathology // Progressive supranuclear palsy: clinical and research approach / Litvan Y., Agid Y., eds. - Oxford: Oxford University Press, 1992. — P. 44–8.
18. Larner A. J. Did Charles Dickens describe progressive supranuclear palsy in 1857? // Mov. Disord. — 2002. — (online publication March, 29).
19. Litvan I., Agid Y., Calne D. et al. Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): Report of the NINDS-SPSP International Workshop // Neurology. — 1996. — Vol. 47. — P. 1–9.
20. Lubarsky M. Progressive Supranuclear Palsy. A current review // M. Lubarsky, J.L. Juncos // The Neurologist. — 2008. — Vol. 14, No. 2. — P. 79–88.
21. Scaravilli T. Progressive Supranuclear Palsy and Corticobasal Degeneration: lumping versus splitting / T. Scaravilli, E. Tolosa, I. Ferrer / Movement Disorders. — 2005. — Vol. 20, Suppl. 2. — P. S21-S28.
22. Williams D.R. Progressive Supranuclear Palsy: clinicopathological concepts and diagnostic challenges / D.R. Williams, A.J. Lees // Lancet Neurology. — 2009. — Vol. 8, No. 3. — P. 270-279.

## SUMMARY

### PROBABLE PROGRESSIVE SUPRANUCLEAR PALSY (STEELE-RICHARDSON-OLSZEWSKI SYNDROME): CLINICAL OBSERVATION

Pinchuk V., Kryvchun A., Subbota L., Sylenko H., Pinchuk V.

*Higher State Educational Institution of Ukraine «Ukrainian Medical Dental Academy»;  
Poltava Regional Clinical Hospital. MV Sklifosovsky, Ukraine*

The article presents our own clinical observation of two cases of probable supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome), which refers to neurodegenerative diseases. Clinical and diagnostic criteria of this pathology are discussed. Knowledge of this form will help neurolo-

gists not only correctly formulate a diagnosis, but predict its course.

**Keywords:** supranuclear palsy, neurodegenerative diseases.

## РЕЗЮМЕ

### ВЕРОЯТНЫЙ ПРОГРЕССИРУЮЩИЙ СУПРАНУКЛЕАРНЫЙ ПАРАЛИЧ (СИНДРОМ СТИЛА-РИЧАРДСОНА-ОЛЬШЕВСКОГО): КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пинчук В.А., Кривчун А.М., Суббота Л.Ю., Силенко Г.Я., Пинчук В.В.

*Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия»; Полтавская областная клиническая больница им. М.В. Склифосовского, Украина*

В статье приводится собственное клиническое наблюдение двух случаев вероятного супрануклеарного паралича (синдром Стила-Ричардсона-Ольшевского), который относится к нейродегенеративным заболева-

ниям. Обсуждаются клинические и диагностические критерии данной патологии. Знания об этой форме помогут неврологам не только правильно сформулировать диагноз, но и прогнозировать его течение.

## რეზიუმე

შესაძლებელი პროგრესირებადი სუპრანუკლეარული პარალიჩი (სტილ-რიჩარდსონ-ოლშევსკის სინდრომი): კლინიკური შემთხვევა

ვ. პინჩუკი, ა. კრивჩუნი, ლ. სუბოტა, გ. სილენკო, ვ. პინჩუკი

უკრაინის სახელმწიფო უმაღლესი განათლების დაწესებულება “უკრაინის სამედიცინო სტომატოლოგიური ასოციაცია”; პოლტავის მ. სკლიფოსოვსკის სახ. სამხარეო კლინიკური საავადმყოფო, უკრაინა

სტატიაში მოყვანილია საკუთარი კლინიკური დაკვირვება შესაძლებელი სუპრანუკ-

ლეარული პარალიჩის 2 შემთხვევა (სტილ-რიჩარდსონ-ოლშევსკის სინდრომი), რომელიც

განეკუთვნება ნეირო-დეგენერაციულ დაავადებათა რიცხვს. გაანალიზებულია მოცემული პათოლოგიის კლინიკური და დიაგნოსტიკური კრიტერიუმები. ჩატარებული კვლევის შედე-

გად მიღებული მონაცემები დაეხმარება ნევროლოგებს არა მხოლოდ სწორი დიაგნოზის დასმაში, არამედ მისი მიმდინარეობის პროგნოზირების საკითხშიც.

## FACTORS ASSOCIATED WITH THE TIME-BASED PHENOMENOLOGY OF POST-STROKE FATIGUE OVER THE FIRST YEAR AFTER STROKE OCCURRENCE

Delva M., Lytvynenko N., Delva I.

*Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine*

During the last decades, due to significant technologization and urbanization of post-industrial society there is a continuous growth of cardiovascular diseases rates, including stroke [28]. As known, stroke can be complicated with various functional, cognitive, emotional abnormalities, so on.

Post-stroke fatigue (PSF) is a common phenomenon in stroke survivors which has multifactorial etiology [2-5]. It contributes to lower quality of life and a higher risk of death [9, 25]. How to manage and prevent PSF is ranked by stroke survivors and health professionals among the top 10 research priorities relating to life after stroke [18].

According to the concept of time-based phenomenology of PSF there are 3 patterns of PSF (persistent PSF, recovered PSF, and late onset PSF) which could be viewed as part of an evolving process [26]. It is highly plausible that different factors contribute to PSF experienced at different times [26]. So, given the time-based concepts of PSF, for proper management of this pathological phenomenon, it is highly important to clarify factors that might exert significant influence on PSF development at certain time points after stroke occurrence.

The objectives of the study were to analyze factors associated with certain time-based types of post-stroke fatigue over the first year after stroke occurrence.

**Material and methods.** Patients were included in the study if they had an acute stroke (ischemic or hemorrhagic), agreed to participate in the study and were able to provide informed consent. Exclusion criteria were major medical illness that could cause secondary fatigue (oncological, hematological diseases, cardiac, liver, kidney and respiratory insufficiency, progressive angina pectoris, acute myocardial infarction), alcohol abuse, consciousness impairments, insufficient cognitive ability (Mini-Mental State Examination scores less than 24) [7], depressive and anxious disorders (Hospital Anxiety and Depression Scale scores more than 10 for both pathologies) [27], impaired speech function to participate (severe dysphasia or dysarthria), impaired language or written ability to complete the study questionnaires, severe functional disabilities (modified Rankin scale scores  $\geq 4$ ).

Patients' characteristics were evaluated in definite time points: at hospital stay (234 cases), at 1 month (203), at 3 months (176), at 6 months (156), at 9 months (139) and at

12 months (128) after stroke. Data were collected in the face-to-face interviews using structured questionnaires and patient's medical records.

PSF was measured by two self-report questionnaires: fatigue assessment scale (FAS) and multidimensional fatigue inventory-20 (MFI-20). FAS consists of 5 questions about mental components and 5 questions about the physical part of fatigue. The score  $\geq 22$  indicates fatigue presence [13]. MFI-20 is a 20-item multidimensional questionnaire which covers global, physical, mental, motivational and activity-related fatigue domains. A cut-off of 12 out of 20 for every sub-scale has been suggested for use with people with stroke [21].

On the ground of the time-based PSF characteristics and according to evolutionary concept of PSF, we conditionally divided all PSF cases as early PSF (presented only within the first month after stroke and resolved at three months observation), persistent PSF (presented within the first post-stroke month and later) and late PSF (appeared only at three months observation or later).

Socio-demographic factors such as age, gender, marital status (married/single), formal education level (higher/non-higher), pre-stroke employment status (employed/unemployed) were recorded. Pre-stroke fatigue was diagnosed retrospectively if patients reported fatigue lasting longer than 3 months before the stroke [12]. Patients' tobacco smoking status was classified as "non-smoker" (who didn't smoke at least 1 year before the stroke) or "current smoker" (who smoked regularly for the last 1 year before stroke). Subjects were grouped by the level of alcohol consumption (number of drinks per week): none or moderate ( $\leq 7$  for women and  $\leq 14$  for men) and heavy ( $> 7$  for women and  $> 14$  for men) [16]. Signs of anxiety and depression were assessed by the Hospital Anxiety and Depression Scale (anxiety and depression sub-scales using a cut-off of 4, which has been recommended for persons who have had a stroke) [19]. Apathy symptoms were assessed by the Starkstein apathy scale (a cut-off point 14 or more from the total score of the scale was used to dichotomize the patients into apathetic and non-apathetic) [23]. Cognitive impairments were evaluated by the Montreal cognitive assessment (cut-off scores less than 26) [15]. Sleepiness was measured using Epworth scale (scores 10 or more indicate excessive daytime sleepiness)



[10]. For abdominal obesity was measured waist circumference (cut-off 102 cm for males and 88 cm for females). The co-morbidities included arterial hypertension, ischemic heart disease, atrial fibrillation and diabetes mellitus.

For ischemic stroke patients we recorded clinical variables such as following: stroke subtype (non-lacunar – lacunar, according to TOAST criteria [1]), affected cerebral hemisphere (right – left), affected cerebral arterial region (carotid – vertebrobasilar), stroke severity according to NIHSS score, post-stroke functional disability according to modified Rankin scale (mRS) score, presence of acute post-stroke complications (pneumonia, urinary tract infections, pyrexia). For hemorrhagic stroke patients we recorded affected cerebral hemisphere, NIHSS and mRS scores, presence of post-stroke pneumonia, urinary tract infections, pyrexia.

For measurement of brain atrophy we used bifrontal index, bicaudate index, maximum diameter of the third ventricle and cortical atrophy index on T1 MRI sequence [8]. White matter lesions derived from fluid-attenuated inversion recovery imaging was graded from 0 to 3 on Fazekas scale on the basis of visual assessment both periventricular and subcortical areas [6]. The total Fazekas scale score was calculated by adding the periventricular and subcortical scores.

Continuous variables were represented as mean±standard deviation (M±SD) and categorical data were represented by number (n) and percentage. Univariate logistic regression analysis was performed to analyze the odds ratio (OR) with 95% confidence intervals (CI) of factors associated with PSF and certain PSF domains. Variables having a p value less than 0,05 in the univariate analysis were selected and evaluated by multivariate logistic regression models. P values less than 0,05 were considered as significant. Statistical analyses were performed using SPSS 14.0 statistics software.

**Results and their discussion.** Patients' age ranged from 43 to 79 years (63,3±8,4 years). Initially in the study there were 112 (47,9%) males and 122 (52,1%) females. 201 (85,9%) patients suffered of ischemic strokes, 33 (14,1%) had hemorrhagic strokes.

Throughout all PSF diagnoses, according to FAS, – 15 (16,0%) PSF cases were presented as early PSF, 51 (54,2%) PSF cases – as persistent PSF and 28 (29,8%) PSF cases – as late PSF.

Based on the FAS there were no any significant associations between risk of every time-based PSF types and majority of studied factors (age, gender, marital status, education level, pre-stroke employment, pre-stroke fatigue, smoking, alcohol consumption, signs of anxiety, apathy symptoms, excessive daytime sleepiness, abdominal obesity, arterial hypertension, ischemic heart disease, atrial fibrillation, diabetes mellitus, stroke subtypes, affected cerebral hemisphere and cerebral arterial region, stroke severity according to NIHSS, pneumonia, urinary tract infections, pyrexia, brain atrophy indexes).

On the other hand, univariate logistic regression analysis showed that Fazekas scale score increment of 1 point was significantly associated with higher risk of transformation of early PSF into persistent PSF (OR, 1,99; 95% CI, 1,14-3,49; p=0,02). Moreover, at 1 month after stroke occurrence post-stroke functional limitations and cognitive decline were significantly associated with higher risk of persistent PSF: the mRS score increment of 1 point had OR 2,35 (95% CI, 1,16-7,78; p=0,02) and MCI presence – OR 4,50 (95% CI, 1,27-15,89; p=0,03). Factors reliably associated with late PSF developments were only depressive signs at 1 month and at 3 months after stroke – OR 3,09 (95% CI, 1,20-7,98; p=0,02) and OR 2,84 (95% CI, 1,13-4,15; p=0,03), respectively.

As can be seen from table 1, in majority of cases (about three quarters) early PSF was transformed into persistent

Table 1. Numbers of time-based types of PSF domains, according to MIF-20, over the first year after stroke occurrence

PSF domain	Time-based type of PSF		
	early	persistent	Late
global	17	54	25
physical	18	58	25
mental	17	55	25
activity-related	15	55	22
motivational	15	40	19

Table 2. Factors associated with transformation of early PSF into persistent PSF, according to MIF-20, at 1 month after stroke

PSF domain	Factors	
	mRS score increment of 1 point	MCI
global	3,08 (95% CI, 1,46-6,48; p=0,003)	3,77 (95% CI, 1,16-12,25; p=0,03)
physical	2,73 (95% CI, 1,35-5,54; p=0,01)	-
mental	-	3,89 (95% CI, 1,20-12,60; p=0,02)

Table 3. Associations between domains of late PSF, according to MFI-20, and depressive signs

PSF domain	Time point after stroke	
	1 month	3 months
global	3,14 (95% CI, 1,19-8,30; p=0,02)	4,43 (95% CI, 1,33-8,84; p=0,02)
physical	-	2,93 (95% CI, 1,11-7,77; p=0,03)
mental	3,97 (95% CI, 1,51-10,48; p=0,01)	3,38 (95% CI, 1,30-8,79; p=0,01)
motivational	3,72 (95% CI, 1,33-10,42; p=0,01)	-

PSF. The amount of late PSF cases was approximately in 1,5 times higher than the amount of early PSF cases.

By analogy with the FAS, the analysis of the MIF-20 showed that majority of the studied factors also had no associations with the risk of various PSF domains development.

From univariate logistic regression analysis, Fazekas scale score increment of 1 point was significantly associated with higher risk of global PSF persistence (OR, 2,18; 95% CI, 1,19-4,01; p=0,01) and mental PSF persistence (OR, 2,25; 95% CI, 1,26-4,04; p=0,01). The similar results were obtained in a study with 377 patients – people with leukoaraiosis were more likely to have PSF 6 months after stroke [14]. It's well known that white matter rarefaction is directly connected with cognitive decline [20]. Associations between leukoaraiosis severity and risk of mental PSF persistence can be explained, at least partially, by the fact that persons with cognitive impairments try to compensate the cognitive deficits by making extra effort with subsequent rapid exhaustion [24].

Table 2 shows that degree of post-stroke functional disability was significantly associated with increased risk of global PSF persistence (due to increased risk of physical PSF persistence). In the same manner, MCI were associated with increased risk of global PSF persistence (due to increased risk of mental PSF persistence). However, in multivariate logistic regression analysis with mRS score and MCI, only mRS score was as independent predictor of global PSF persistence (OR, 2,93; 95% CI, 1,36-6,36; p=0,01).

According to the conceptual model of PSF by Wu S. and co-authors, stroke lesions and related biological factors (post-stroke inflammation, neuroendocrine changes, etc.) contribute only to early PSF which occurs just after stroke [26]. After a certain period mechanisms responsible for early PSF developments had been gradually vanishing and early PSF respectively also disappeared. But cognitive decline and post-stroke functional limitations could play apparently a supporting role for persistence of early PSF which is thus transformed and acquired quite different etiological and also, probably, pathogenetic nature. From literature, in one study with 108 patients, physical and cognitive impairments at 3 months after stroke were associated with PSF 1 year later [17].

Why, according to our findings, mRS score and MCI are connected with PSF persistence just after 1 month and not early? Maybe this phenomenon can be partially explained by the fact that during hospital stay patients produce much less physical and mental efforts and therefore

they don't have full possibilities to feel PSF. On the other hand, it's possible that just after stroke occurrence patients' attention is diverted from PSF to acute stroke disorders (motor, sensory, atactic, so on) and patients simply didn't notice the presence of PSF.

Throughout variety of studied factors only depressive signs had reliable associations with increased risk of late PSF development. Interestingly, these associations were statistically reliable only at 1 month and 3 months after stroke but not early.

Tables 3 shows that the presence of depressive signs was significantly associated with increased risk of late PSF (due to increased risk of its various components). These findings are in line with other publications. Two longitudinal studies (204 patients) reported that baseline depression was associated with follow-up PSF [11, 17]. Study which included 108 patients reported that depression at 2 months after stroke was independent predictor of PSF at 18 months [22]. So, it's highly probable that late PSF has quite different nature than early and persistent PSF and late PSF is based just on psychoemotional ground. Anyway this questions needs to be solved in future studies.

In any case further clarification and differentiating the underlying pathobiology of early PSF, persistent PSF and late PSF will be important to provide personalized management of this post-stroke phenomenon.

**Conclusions.** 1. Level of leukoaraiosis, according to Fazekas scale score, is associated with increased risk of PSF persistence (due to increased risk of mental PSF persistence).

2. At 1 month after stroke higher functional disability, according to mRS score, and MCI were associated with increased risk of PSF persistence, due to increased risk of physical and mental PSF persistence, respectively.

3. Depressive signs at 1 month and 3 months after stroke were associated with increased risk of late PSF (due to its various components).

## REFERENCES

1. Adams J, Bendixen B, Kappelle L, Kappelle L, Biller J, Love B, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment // Stroke. 1993;24(1):35-41.
2. Delva I, Delva M, Poltorapavlov V. Clinical factors related to post-stroke fatigue within the first 3 month after acute cerebrovascular events // Wiad Lek. 2017;70(3):581-5.
3. Delva I, Lytvynenko N, Delva M. Factors associated with post-stroke fatigue within the first 3 months after stroke // Georgian Med News. 2017;6(267):38-43.

4. Delva I, Lytvynenko N, Delva M. Post-stroke fatigue and its dimensions within first 3 months after stroke // *Wiad Lek.* 2017;70(1):43-6.
5. Delva M, Delva I. Neuromaging characteristics and post-stroke fatigue within the first 6 months after ischemic stroke // *Georgian Med News.* 2017;10(271):91-5.
6. Fazekas F, Chawluk J, Alavi A, Hurtig H, Zimmerman R. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. // *AJR Am J Roentgenol.* 1987;149:351-6.
7. Folstein M, Folstein S, McHugh P. Mini-mental state: A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician // *J Psychiatr Res.* 1975;12:189-98.
8. García-Valdecasas-Campelo E, González-Reimers E, Santolaria-Fernández F, De La Vega-Prieto M, Milena-Abril A, Sánchez-Pérez M, et al. Brain atrophy in alcoholics: relationship with alcohol intake; liver disease; nutritional status, and inflammation // *Alcohol Alcohol.* 2007;42(6):533-8.
9. Glader E, Stegmayr B, Asplund K. Poststroke fatigue: a 2-year follow-up study of stroke patients in Sweden // *Stroke.* 2002;33:1327-33.
10. Johns M. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale // *Sleep.* 1991;14(6):540-5.
11. Lerdal A, Bakken L, Rasmussen E, Beiermann C, Ryen S, Pynten S, et al. Physical impairment, depressive symptoms and pre-stroke fatigue are related to fatigue in the acute phase after stroke // *Disabil Rehabil.* 2011;33(4):334-42.
12. Lerdal A, Gay C. Fatigue in the acute phase after first stroke predicts poorer physical health 18 months later // *Neurology.* 2013;81:1581-7.
13. Michielsen H, De Vries J, van Heck G. Psychometric qualities of a brief self-rated fatigue measure: The Fatigue Assessment Scale. *J Psychosom Res.* 2003;54(4):345-52.
14. Naess H, Lunde L, Brogger J, Waje-Andreassen U. Fatigue among stroke patients on long-term follow-up. The Bergen Stroke Study // *J Neurol Sci.* 2012;312:138-41.
15. Nasreddine S, Phillips N, Bedirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, et al. The Montreal cognitive assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment // *J Am Geriatr Soc.* 2005;53:695-9.
16. National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA). Moderate and Binge Drinking. 2014, <http://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/overview-alcohol-consumption/moderate-binge-drinking>.
17. Passier P, Post M, van Zandvoort M, Rinkel G, Lindeman E, Visser-Meily J. Predicting fatigue 1 year after aneurysmal subarachnoid hemorrhage // *J Neurol.* 2011;258:1091-7.
18. Pollock A, St George B, Fenton M, Firkins L. Top ten research priorities relating to life after stroke // *Lancet Neurol.* 2012;11:209.
19. Sagen U, Vik T, Moum T, Murland T, Finset A, Dammen T. Screening for anxiety and depression after stroke: comparison of the hospital anxiety and depression scale and the Montgomery and Asberg depression rating scale // *J. Psychosom. Res.* 2009;67(4):325-32.
20. Schmidt R, Petrovic K, Ropele S, Enzinger C, Fazekas F. Progression of leukoaraiosis and cognition // *Stroke* 2007;38(9):2619-25.
21. Smets E, Garssen B, Bonke B, Dehaes J. The multidimensional fatigue inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue // *J Psychosom Res.* 1995;39:315-25.
22. Snaphaan L, van der Werf S, de Leeuw F. Time course and risk factors of post-stroke fatigue: a prospective cohort study // *Eur J Neurol.* 2011;18:611-7.
23. Starkstein S, Migliorelli R, Manes F, Teson A, Petracca G, Chemerinski E, et al. The prevalence and clinical correlates of apathy and irritability in Alzheimer's disease // *Eur J Neurol.* 1995;2:540-6.
24. Staub F, Bogousslavsky J. Fatigue after stroke: a major but neglected issue // *Cerebrovasc Dis.* 2001;12(2):75-81.
25. van de Port I, Kwakkel G, Schepers V, Heinemans T, Lindeman E. Is fatigue an independent factor associated with activities of daily living, instrumental activities of daily living and health-related quality of life in chronic stroke? // *Cerebrovasc Dis.* 2007;23:41-5.
26. Wu S, Mead G, Macleod M, Chalder T. Model of understanding fatigue after stroke. *Stroke.* 2015; 46 (3):893-8. D
27. Zigmond A, Snaith R. The hospital anxiety and depression scale // *Acta Psychiatr Scand.* 1983;67(6):361-70.
28. Кайдашев ИП. Изменение образа жизни, нарушение энергетического метаболизма и системное воспаление как факторы развития болезней цивилизации // *Укр. мед часопис.* 2013;5(97):103-8.

## SUMMARY

### FACTORS ASSOCIATED WITH THE TIME-BASED PHENOMENOLOGY OF POST-STROKE FATIGUE OVER THE FIRST YEAR AFTER STROKE OCCURRENCE

Delva M., Lytvynenko N., Delva I.

*Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine*

Aim - analyze factors associated with certain time-based types of post-stroke fatigue (PSF) over the first year after stroke occurrence.

There were examined patients consequently in definite time points after ischemic or hemorrhagic strokes: at hospital stay (234 patients), at 1 month (203), at 3 months (176), at 6 months (156), at 9 months (139) and at 12 months (128). PSF and certain PSF domains were measured by fatigue assessment scale and multidimensional fatigue inventory-20 scale. All PSF cases were divided as early PSF (presented only within the first month after stroke), persistent PSF (presented within the first post-stroke month and later) and late PSF (appeared only at three months observation or later). In univariate logistic regression analysis there were no any significant associations between risk of every time-based PSF types and majority of studied factors. On the other hand, Fazekas scale score was significantly associated with higher risk of persistence of global and mental PSF. Post-stroke functional disability, according to modified Rankin scale, was significantly associated with increased risk of global and physical PSF persistence. Mild cognitive impairments were associated with increased risk of global and mental PSF persistence. The presence of depressive signs at 1 month and 3 months after stroke was significantly associated with increased risk of late PSF (due to increased risk of various PSF components).

Management of post-stroke functional abnormalities, mild cognitive impairments and depressive signs probably may be helpful for prevention of early PSF persistence and development of late PSF.

**Keywords:** stroke, early fatigue, persistent fatigue, late fatigue.

## РЕЗЮМЕ

### ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВРЕМЕННЫМИ ТИПАМИ ПОСТИНСУЛЬТНОЙ УСТАЛОСТИ В ТЕЧЕНИЕ ПЕРВОГО ГОДА ПОСЛЕ ИНСУЛЬТА

Дельва М.Ю., Литвиненко Н.В., Дельва И.И.

*Украинская медицинская стоматологическая академия, Полтава, Украина*

Целью исследования явилось идентифицировать факторы, ассоциированные с определенными временными типами постинсультной усталости в течение первого года после инсульта.

Проведено последовательное обследование пациентов в определенных временных точках после развития ишемических или геморрагических инсультов: во время пребывания в стационаре (n=234), спустя один месяц (n=203), 3 месяца (n=176), 6 месяцев (n=156), 9 месяцев (n=139) и 12 месяцев спустя (n=128). Наличие общей постинсультной усталости (ПИУ), как и отдельных ее компонентов, определялось с помощью шкалы оценки усталости и многомерной шкалы усталости (MIF-20). Все случаи ПИУ поделены на раннюю ПИУ (присутствовала только в течение 1 месяца после инсульта), персистирующую ПИУ (присутствовала в течение 1 месяца и после) и позднюю ПИУ (появлялась только спустя 3 и позже после инсульта).

Унивариантный логистический регрессионный анализ каких-либо достоверных ассоциаций между всеми тремя временными типами ПИУ и большинством изучаемых факторов не выявил. Выявлены прямые статистически достоверные ассоциации между выраженностью лейкоареоза (согласно шкалы Fazekas) и риском персистирования глобальной и психической ПИУ, между степенью постинсультного функционального ограничения (согласно модифицированной шкалы Рэнкина) и риском персистирования глобальной и физической ПИУ, наличием легких когнитивных нарушений и риском персистирования глобальной и психической ПИУ. Наличие у пациентов депрессивных расстройств спустя 1 и 3 месяца спустя после инсульта ассоциируется с достоверным повышением риска развития поздней ПИУ за счет ее физического, психического и мотивационного компонентов. На основании данных проведенного исследования авторы делают вывод, что степень выраженности лейкоареоза и

легкие когнитивные нарушения достоверно повышают риск персистирования ПИУ за счет ее психического компонента, а степень постинсультного функционального ограничения достоверно повышает риск персистирования ПИУ за счет ее физического компонента. Пациенты с депрессивными расстройствами являются группой риска относительно развития всех компонентов поздней ПИУ.

## რეზიუმე

პოსტინსულტური დადლილობის დროით ტიპებთან ასოცირებული ფაქტორები ინსულტის შემდეგ ერთი წლის განმავლობაში

მ.დელვა, ნ. ლიტვინენკო, ი. დელვა

*უკრაინის სამედიცინო სტომატოლოგიური აკადემია, პოლტავა, უკრაინა*

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პოსტინსულტური დადლილობის დროით ტიპებთან ასოცირებული ფაქტორების იდენტიფიკაცია ინსულტის შემდეგ ერთი წლის განმავლობაში.

ჩატარებულია პაციენტების თანმიმდევრული გამოკვლევა დროის განსაზღვრულ წერტილებში იშემიური და ჰემორაგიული ინსულტების განვითარების შემდეგ: სტაციონარში ყოფნის დროს (n=234), 1 თვის შემდეგ (n=203), 3 თვის (n=176), 6 თვის (n=156), 9 თვის (n=139) და 12 თვის შემდეგ (n=128). ზოგადი პოსტინსულტური დადლილობის (პიდ) ისევე, როგორც მისი ცალკეული კომპონენტების, არსებობა განისაზღვრა დადლილობის შეფასების სკალით და დადლილობის მრავალგანზომილებიანი სკალით (MIF-20). პიდ-ის ყველა შემთხვევა დაყოფილ იქნა ადრეულ (მხოლოდ ერთი თვის განმავლობაში ინსულტის შემდგომ), პერსისტულ (ერთი თვის და მეტი ხნის განმავლობაში ინსულტის შემდგომ) და გვიან (გამოვლენილი ინსულტის შემდგომ სამი თვის და მეტი ხნის შემდეგ). უნივარიანტული რეგრესიული ანალიზით რაიმე სარწმუნო ასოციაცია პიდ-ის სამივე დროით ტიპს და შესწავლილ ფაქტორთა უმეტესობას შორის არ გამოვლინდა. დადგენილია პირდაპირი სტატისტიკურად სარწმუნო ასოციაციები ლეიკოარეოზის გამოვლინებას (Fazekas-ის სკალის მიხედვით) და გლობალური და ფსიქიკური პიდ-ის პერსისტირების რისკს შორის, პოსტინსულტური ფუნქციური შეზღუდულობის ხარისხს (რენკინის მოდიფიცირებული სკალის მიხედვით) და გლობალური და ფსიქიკური პიდ-ის პერსისტირების რისკს შორის, მსუბუქი კოგნიტიური დარღვევების არსებობას და გლობალური და ფსიქიკური პიდ-ის პერსისტირების რისკს შორის. ინსულტის შემდგომ 1 და 3 თვის შემდეგ პაციენტებში დეპრესიული დარღვევების არსებობა ასოცირდება გვიანი პიდ-ის განვითარების



რისკის ზრდასთან (მისი ფიზიკური, ფსიქიკური და მოტივაციური კომპონენტების ხარჯზე).

ლეიკოარეოზის გამოხატვის ხარისხი და მსუბუქი კოგნიტიური დარღვევები სარწმუნოდ ზრდის პიდ-ის პერსისტირების რისკს (მისი ფსიქიკური კომპონენტის ხარჯზე), ასევე, პოსტინ-

სულტური ფუნქციური შეზღუდულობის ხარისხი სარწმუნოდ ზრდის პიდ-ის პერსისტირების რისკს (მისი ფიზიკური კომპონენტის ხარჯზე). პაციენტები დეპრესიული დარღვევებით წარმოადგენს რისკის ჯგუფს გვიანი პიდ-ის ყველა კომპონენტის განვითარებისათვის.

---

## THE ROLE OF THE STRESS IN THE DEVELOPMENT OF SEVERE FORMS OF PSORIASIS (CASE REPORT)

Daschuk A., Dobrzhanskaya Ye., Pustovaya N.

*Kharkov National Medical University, Department of Dermatology, Venerology and AIDS, Ukraine*

Up to the present-day psoriasis remains one of the most urgent problems of modern dermatology. Its high share (up to 15%) among other skin lesions, multifactorial aetiology, chronic recurrent course, psychosocial disadaptation of patients, incomplete knowledge of the mechanisms of development necessitate further studies of the disease pathogenesis.

The dependence of the clinical course of psoriasis and morphofunctional state of the skin upon the effect of different environmental factors, namely stress ones, as well as dysfunction of the hypothalamus, metabolic disturbances in hormones of the peripheral internal secretion glands in patients point out to an abnormality of adaptation mechanisms [2,12-14]. Stress is known to be a provocative and aggravating factor of the course of psoriasis in 20-80 % of cases, as it follows from studies of Ukrainian researchers [7].

The stress response is based on an activation of the complex of mechanisms, which realize (stress-realizing) and limit (stress-limiting) it. The stress system is a sophisticated regulatory complex, which coordinates homeostasis in normal conditions and plays a key part in activating and coordinating changes in the body. This system consists of the central and peripheral links, which include components of the nervous, endocrine and immune systems that in this way provide the general adaptive response of the organism. The conjugated block of the hypothalamus and hypophysis is the central link of the stress-realizing system, its peripheral one consisting of the sympathoadrenal system and components of the endocrine system (the hypothalamic-pituitary-adrenal axis) [4,11,12].

The reaction of the organism in response to changes in its homeostasis was first described by Canadian physiologist Hans Selye in 1936. He termed this state the stress response and characterized it as the general adaptive syndrome or general nonspecific neurohumoral response of the organism to any requirement to it.

Also, urgent remains a relationship of endocrine and immune changes in the development of psoriasis. A years-long chronic course of the disease affects functions of the nervous, endocrine and immune systems.

The purpose of the present work was to investigate the cause-effect mechanism of an exacerbation, progression or formation of severe forms of the disease as well as changes in the course of cutaneous psoriatic manifestations with revealing of the role of the stress-response in their development by analysis of dynamic peculiarities in the course of psoriasis using a clinical case in the anamnesis as an example.

**Material and methods.** *Case report.* The observation involved patient A., who was born in 1986 and, according to his case history, had been ill with psoriasis since 2011. The scope of diagnostic measures corresponded to the clinical protocol of medical aid for psoriasis, approved by the Ministry of Health of Ukraine in 2016. The study included the patient's psychosomatic state, values of some metabolic processes and stress-realizing immune-neuroendocrine system (cortisol level, ACTH, cytokine profile, state of the immune system) in the beginning of the disease progression in the form of palmoplantar pustulosis against a background of extensive psoriasis and during periods of remission of skin manifestations.

Mental characteristics of the examined patient were studied on the basis of a diagnostic interview and the obtained data were verified with use of standardized experimental-psychological techniques for revealing the level of neurological changes after Wassermann, the levels of state and trait anxiety after Spilberg-Khanin, and the level of depression self-rating by the Zung scale [8,16]. The value of 60 % and higher was regarded as a high, i.e. clinically significant, level of neurotization. The level of anxiety below 30 points was considered to be low, 31-45 points – moderate, 46 points and more – high. A high level of state anxiety was regarded as clinically significant. If the value by the Zung scale was 50 points and lower, the state “without depression” was diagnosed, 51-59 points revealed “mild depression”, 60-69 points detected “masked depression” or the state of subdepression, 70 points and more pointed to “true depression”. Mild, “masked” and true depressions were considered to be clinically significant for the course of psoriasis.

Proper test systems were used in order to reveal the

following values of: protein metabolism – blood serum levels of total protein, urea and albumins, percentage ratio of protein fractions, thymol test level; lipid metabolism – content of total lipids,  $\beta$ -lipoproteins, triglycerides and cholesterol; carbohydrate metabolism – glucose concentration; activity of alanine and aspartate aminotransferases (ALT, AST), blood serum amylase; content of bile pigments, bilirubin concentration.

The levels of T and B lymphocyte subpopulations in the patient with psoriasis were detected in compliance with the instruction for using erythrocytic diagnostic agents Anti-CD3, Anti-CD4, Anti-CD8, Anti-CD16 and Anti-CD22 (“Granum”, Ukraine) in order to reveal human T and B lymphocyte subpopulations.

Concentrations of total immunoglobulins of classes M (IgM) and G (IgG) in blood serum were revealed by ELISA with help of such kits as “Total IgM – ELISA – BEST” and “Total IgG – ELISA – BEST” (“Vector-BEST”, Russia).

The content of IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10, IL-17 and TNF- $\alpha$  in the patient’s blood serum was studied following the techniques and instruction with help of proper test systems (“Vector-BEST”, Russia) on the basis of the sandwich method of enzyme-linked immunosorbent assay.

Concentrations of ACTH and cortisol in blood plasma were revealed using proper reagent kits “ACTH-(Cortisol)-ELISA-BEST” (“Vector-BEST”, Russia), the

above being based on the technique of enzyme-linked immunosorbent assay with use of monoclonal antibodies.

**Results and their discussion.** Let us analyse peculiarities in the course of psoriasis on the example of a clinical case in the anamnesis with the subsequent revealing of the role of the stress-response during an exacerbation, progression or formation of severe forms of the disease.

Patient A. came to a dermatologist in November of 2016 for a regular examination as a follow-up case since 2011, when the following initial diagnosis was made: diffuse vulgar plaque psoriasis with a moderate degree of infiltration, the steady stage, a moderately recurrent course, chronic gastritis, chronic cholecystitis. The patient attributed the onset of his disease and subsequent exacerbations of the pathological skin process to frequent nerve strain. Allergic responses to medicines (Paracetomolum, Thio-triazoline, salicylic ointment) and foodstuffs (oranges, eggs, peanuts) developed often. Inheritance for psoriasis was tainted on the paternal line. The patient abused alcohol. He developed exacerbations once during two years in the winter period but had not observed any clear periodicity of manifestations since 2014. He underwent outpatient and inpatient treatment several times according to protocols. The periods of exacerbation lasted from 2 to 3 months. Patient A. was hospitalized on November 27, 2016 with complaints about extensive eruptions on the skin of his scalp, trunk, upper and lower extremities

Table 1. Dynamics of biochemical values

Index	Norm	Date	
		28.11.2016	25.12.2016
Albumins, %	56.6–66.8	51.5	60.6
Total protein, g/l	65–85	69.0	76.0
Globulins, %	43.4–33.2	48.5	39.4
$\alpha_1$ , %	3.5–6.0	4.2	5.8
$\alpha_2$ , %	6.9–10.5	12.2	8.0
$\beta$ , %	7.3–12.5	8.7	9.2
$\gamma$ , %	12.8–19.0	23.4	16.4
Total bilirubin, $\mu$ mol/l	8.5–20.8	21.0	17.8
Glucose, mmol/l	3.5–5.7	4.7	4.1
Thymol test, units	0–4	4.6	2.1
ALT, $\mu$ kat/l	0.028–0.190	0.320	0.190
AST, $\mu$ kat/l	0.028–0.190	0.250	0.210
Amylase, mg/h $\times$ ml	12–32	17.0	23.0
Urea, mmol/l	2.5–8.3	5.7	5.4
Total lipids, g/l	3.5–8.0	4.7	5.5
$\beta$ -lipoproteins, units	35–55	27	35
Triglycerides, mmol/l	0.55–1.65	0.98	0.80
Cholesterol, mmol/l	4.65–6.46	7.5	5.0
Seromucoids, units	0.13–0.2	0.09	0.13

Table 2. Dynamics of some values of the stress-realization immune-neuroendocrine system

Index	Results of studies				Value of healthy people	
	28.11.2016		25.12.2016		%	Abs.
	%	Abs.	%	Abs.		
Dynamics of some values of cellular immunity						
Leukocytes, g/l		5.0		7.2		4.0-8.0
Lymphocytes, g/l	35		21		18-40	1.2-3.5
CD3/T lymphocytes, g/l	63	1.10	58	0.88	50-80	0.6-2.5
CD4/T helpers, g/l	30	0.53	37	0.56	33-46	0.45-1.20
CD8/T cytotoxic leukocytes, g/l	33	0.58	21	0.32	17-30	0.25-0.75
CD16/natural killers, g/l	16	0.28	22	0.33	12-23	0.20-0.50
CD22/B lymphocytes, g/l	18	0.32	25	0.38	17-31	0.20-1.10
Immunoregulatory index (IRI)	1.75		1.76		1.4-2.1	
Dynamics of some values of humoral immunity						
Total immunoglobulins of class M (IgM), mg/ml	2.6		1.8		0.5-2.0	
Total immunoglobulins of class G (IgG), mg/ml	51.4		20.6		5.3-16.5	
Dynamics of some values of the hormonal system						
ACTH, pg/ml	128.0		59.8		9-52	
Cortisol, nmol/l	903.8		281.5		190-690	
Dynamics of some values of the cytokine profile						
Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )	-4.2		0.7		0-11	
Interleukin 8 (IL-8)	215.0		64.8		0-10	
Interleukin 10 (IL-10)	38.3		24.6		0-31	
Interleukin 17 (IL-17)	-4.4		0.5		0-5	
Tumor necrosis factor $\alpha$ (TNF $\alpha$ )	18.2		19.8		0-6	

as well as pronounced itching, skin contractions in the areas of eruptions, feeling unwell and sleep disturbances. On examination, the skin of his scalp, all trunk surfaces, upper and lower extremities revealed extensive oedematous-infiltrative erythematous foci as well as pustular eruptions on his palms. The whole surface of the eruptions was covered with white-silver desquamation, which easily fell off. The psoriatic triad was positive. Nail plates had numerous punctate impressions ("thimble symptom") and transversal furrows. Psoriasis Area Severity index (PASI) = 54.2. According to the results of the clinical-laboratory examination, the following diagnosis was made: diffuse vulgar psoriasis with a torpid course and a sharply expressed degree of infiltration, palmar pustular psoriasis, its progressive stage with a moderately recurrent course; psoriatic onychodystrophy; reactive hepatitis. Hence, psoriasis was classified as severe. Taking into consideration the data of his anamnesis and results of the clinical-laboratory examination (Tables 1 and 2), the patient was recommended cytostatics – methotrexate, narrowband phototherapy with 311 nm of the whole body, external therapy with glucocorticosteroids.

Laboratory examinations were carried out in the dynamics of the suggested treatment. In the process of the recommended therapy the changed values of the patient's general blood analysis and biochemical examination nor-

malized almost completely, except for ESR level and AST. But despite the clinical stabilization in the activity of the cutaneous psoriatic process the results of the obtained data on the stress-realizing immune-neuroendocrine system revealed unsatisfactory functioning of the patient's adaptive response and necessitated revision of the treatment protocol, particularly the adequate corrective therapy. The patient stayed 18 days at the dermatological department and was observed as an outpatient up to total 48 days. The period of treatment demonstrated the following dynamics of eruptions: decrease of desquamation on the 4<sup>th</sup> day, decrease of infiltration from the 8<sup>th</sup> one, marked paleness of eruption elements on the 11<sup>th</sup>-12<sup>th</sup> days, clear regression of psoriatic elements from the 19<sup>th</sup> one. Besides, pustules on the palms regressed on the 19<sup>th</sup> day too. Complete oral prophylaxis and tonsillectomy were performed. The patient refused to drink alcohol. During his regular prophylactic medical examination in February of 2017 the patient revealed complete remission of psoriasis.

The patient's psychosomatic state and stress-realizing immune-neuroendocrine system were studied at the onset of psoriasis progression, particularly during development of its severe stage (pustular psoriasis), and in the period of remission of skin syndrome. The psychosomatic state of the patient in the beginning of the development

of the severe stage and at the period of remission of the skin process (during a double survey in the dynamics of treatment) and the above state in healthy people significantly differed, particularly: neurotization in the patient –  $74.3 \pm 0.5$ , at the stage of remission of the skin process –  $57.4 \pm 0.2$ , while that of healthy people was  $4 \pm 0.1$ ; state anxiety, respectively –  $48 \pm 0.3$ ,  $32 \pm 0.8$  and  $7.8 \pm 0.2$ ; trait anxiety, respectively –  $79.1 \pm 0.9$ ,  $59.1 \pm 0.4$ ,  $7.3 \pm 0.5$ . Life quality indicators: physical activity –  $34.2 \pm 0.3$ ,  $40.8 \pm 0.5$  in the patient and  $96.2 \pm 1.2$  in healthy people; social activity –  $23.5 \pm 1.7$ ,  $31.7 \pm 1.11$  in the patient and  $86.9 \pm 0.3$  in healthy people; mental health indicator, respectively –  $24.12 \pm 1.7$ ,  $32.3 \pm 1.7$  and  $58.9 \pm 1.4$ . These data reveal that the patient had a significantly disturbed psychoemotional state, which hampered him in social adaptation and self-realization as an individual.

The concentrations of trigger cytokines IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10, IL-17 and TNF $\alpha$ , that of stress hormones – ACTH and cortisol as well as the state of cellular-humoral immunity (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, immunoregulatory index (IRI); levels of IgM, IgG) were revealed in the patient's blood serum during his examination. A reliable increase of concentrations of all stress response mediators was detected, it demonstrating an intension of stress-realizing mechanisms in the patient despite clinical stabilization of his skin process. In our opinion, self-depreciation of the patient as for the social implication of his personality acts as the stress factor in this situation. Marked changes in the studied values of the stress-realizing immune-neuroendocrine system developed as a response to the damage of the functional-psychological kind. Findings of our clinical studies confirm an activation of the stress system in psoriasis [7,10,15]. For example, particularly reliable are increases of IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , ACTH and cortisol levels simultaneously with significantly decreased levels of IL-1 $\beta$  and IL-17. Hence these indices play their part in the development of psoriasis and its severe forms, their various effects necessitating further studies. We believe that IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17 and TNF $\alpha$  are key mediators of the stress-realizing immune-neuroendocrine system. The above cytokines are expressed mostly in those areas, which are responsible for autonomic and endocrine regulation (hypothalamus, hippocampus) and can modulate activity of hormone-producing cells. Hence, being activated, the system of IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17 and TNF $\alpha$  causes a complex stress-realizing response of the immune-neuroendocrine system.

The levels of each of the above mediators of the immune-neuroendocrine system directly correlated with the severity of the patient's dermatological state and the degree of his psychosomatic changes, thereby giving grounds for noticing their effect on the course of the disease. This fact confirms a damaging influence of the excessive stress response, which is a severe distress with cytotoxic and proapoptotic effects of cytokines and stress hormones [1,2,4], it being totally reflected on the clinical course of psoriasis and the patient's social adaptation. A relation of the stress system mediators with the degree of psoriasis regression gives grounds to examine these indices as diagnostic criteria for revealing the

degree of severity in the course of disease and use them in designing new therapeutic strategies. This patient's example clearly demonstrates the function of the human regulatory system, aimed to maintain its homeostasis both at norm and in pathology. The regulatory system function is expressed by a close interaction (especially during responses to stresses) of the immune, nervous and endocrine components (the "homeostatic triangle") following the principle of mutual regulation, which is provided by neuropeptides, hormones and cytokines [1,4,7,13,15]. Therefore an initial damage of any subsystem of the immune-neuroendocrine system constitutes a risk of the development of dysregulatory pathology [9].

So, the stress response has a general course and irrespective of the cause of stress (mental strain, injury, childbirth, metabolic change in the body, burns, scalds, sepsis, etc.) is accompanied with a significant intension of the stress-realizing systems, the hypothalamic-pituitary-adrenal one in particular. The result of the deficit of stress-limiting mechanisms is as follows: the stress response, which is initially adaptive, begins to take part in mechanisms of the pathological process [3,5,6]. This fact makes urgent further studies of the state of the stress-realizing immune-neuroendocrine system in psoriasis and expediency of such therapy, which is aimed at limitation of an excessive stress response.

## REFERENCES

1. Акмаев ИГ, Гриневич ВВ. Нейроиммуноэндокринология гипоталамуса. Москва: Медицина; 2003:168.
2. Васильев А.Г., Заславский Д.В., Трашков А.П. Изменения гормонального статуса у пациентов с очаговым вульгарным псориазом // Вестник дерматологии и венерологии. 2011; 5:88-90.
3. Гладчук В.Е. Психосоматические аспекты в клинике больных зудящими дерматозами. Дерматовенерология. Косметология // Сексопатология. 2000;1-4(6):156-159
4. Гриневич ВВ, Акмаев ИГ, Волкова ОВ. Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем. Санкт-Петербург: Symposium; 2004: 159.
5. Дороженюк И.Ю., Львов А.Н., Бобко С.И. Современные аспекты применения психотропных препаратов в дерматологической практике // Рос. журн. кожн. и венер. болезн. 2011;1:20-25.
6. Зупинець ІЯ, Отрішко ІА, Побережнік ОЮ. Фармацевтична опіка хворих на псоріаз: шляхи підвищення якості життя // Фармацевтичний часопис. 2010; 1:70-75.
7. Клименко Н. А. Оценка гормонального статуса при распространённом псориазе и обоснование информативных показателей тяжести течения и эффективности лечения лимфопролиферативных процессов // Експериментальна і клінічна медицина. 2010;2:23-27.
8. Кривжановский ГН. Дизрегуляционная патология и патологические интеграции в нервной системе // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. 2009; 109(1): 4-9.
9. Кубанова АА, Ризова Е, Николас ДжФ. Роль иммунных воспалений в патогенезе псориаза: новые стратегии биологической терапии и значимость пути IL-12/23 // Вестник дерматологии, венерологии. 2009; 2:4-15.
10. Куц Л. В. Сучасні аспекти "нейрогенного" компоненту запалення при псоріазі. Вісник проблем біології і медицини:



науково-практичний журнал // Українська медична стоматологічна академія. 2012;4(2):96-98.

11. Малахов ОВ, Монастирський ВО. Сучасні уявлення про імуноендокринну систему в нормі та при патології // Новості медицини і фармації. 2010; 16: 3-4.

12. Сизон ОО. Роль стрес-системи у розвитку артропатичного псоріазу // УЖДВК. 2013;1 (48):33-43.

13. Степаненко ВІ, Сизон ОО, Шупенько НМ і др. Псоріаз. Дерматологія, венерологія: учебник. К.: КИМ. 2012:167-197.

14. Chandran V, Raychaudhuri SP. Geoepidemiology and environmental factors of psoriasis and psoriatic arthritis // J. of Autoimm. 2010;34(3):314-321.

15. Daudén ES, Suárez C, García-Campayo AJ. Integrated Approach to Comorbidity in Patients With Psoriasis. Actas Dermosifiliográficas. 2012; 103 (1. 1):1-64.

16. Gee SN, Zakhary L, Keuthen N. A survey assessment of the recognition and treatment of psychocutaneous disorders in the outpatient dermatology setting: How prepared are we? // Journal of the American Academy of Dermatology. 2013;68 (1):47-52.

## SUMMARY

### THE ROLE OF THE STRESS IN THE DEVELOPMENT OF SEVERE FORMS OF PSORIASIS (CASE REPORT)

**Daschuk A., Dobrzhanskaya Ye., Pustovaya N.**

*Kharkiv National Medical University, Department of Dermatology, Venereology and AIDS, Ukraine*

The purpose of the study was to follow the casual mechanism of exacerbation, progression and formation of severe forms of psoriasis, as well as the progression of cutaneous manifestation of psoriasis with the definition of the role of stress response in their development by analyzing features of the psoriasis dynamics on the example of reviewing clinical case in anamnesis. Materials and methods. Examination of the psychosomatic condition and stress-making immunoneuroendocrine system of the patient with psoriasis was conducted at the beginning of disease and in the remission period of psoriasis. In the patient's blood serum the concentration of trigger cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10, IL-17, TNF $\alpha$ ), stress hormones – ACTH and cortisol, the states of cell-humoral immunity (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, immunoregulatory index, Levels of IgM, IgG) were identified. Results and discussion. The results of the study confirm the activation of the stress-system during psoriasis, in particular by elevation of levels of IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , ACTH, cortisol along with the decrease of levels of IL-1 $\beta$ , IL-17, which indicates the tension of the stress-making mechanisms of the patient with psoriasis in spite of clinical stabilization of cutaneous process.

Therefore the above mentioned indications appear to be key mediators of stress-making immunoneuroendocrine system and play an equivocal role in the development of the severe form of psoriasis. Their diverse effects require further investigation.

**Keywords:** psoriasis, ACTH, cortisol, stress syndrome, immune disorders.

## РЕЗЮМЕ

### РОЛЬ СТРЕСС-СИСТЕМЫ В РАЗВИТИИ ТЯЖЕЛЫХ ФОРМ ПСОРИАЗА (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)

**Дашук А.М., Добржанская Е.И., Пустовая Н.А.**

*Харьковский национальный медицинский университет, кафедра дерматологии, венерологии и СПИДа, Украина*

Цель исследования – анализ особенностей динамики течения псориаза на примере клинического случая в анамнезе, причинно-следственный механизма обострения, прогрессирования и формирования тяжелых форм заболевания и кожных псориазических проявлений с определением роли стресс-реакции в их развитии.

Проведено исследование психосоматического состояния и иммунонейроэндокринной системы больного в начале заболевания псориазом и в период ремиссии кожного процесса. В сыворотке крови пациента определены концентрации триггерных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10, IL-17, TNF $\alpha$ ), стрессорных гормонов – адренокортикотропного (АКТГ) и кортизола, состояние клеточно-гуморального иммунитета (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, иммунорегуляторный индекс, уровень IgM, IgG). Данные клинического исследования подтверждают активацию стресс-системы при псориазе, в частности повышение уровней IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , АКТГ, кортизола с одновременно сниженными уровнями IL-1 $\beta$ , IL-17, что свидетельствует о напряженности стресс-реализующих механизмов при псориазе, несмотря на стабилизацию кожного псориазического процесса.

Таким образом, данные показатели являются ключевыми медиаторами стресс-реализующей иммунонейроэндокринной системы и играют неоднозначную роль при развитии тяжелых форм псориаза. Их разнообразные эффекты требуют дальнейшего изучения.

## რეზიუმე

სტრეს-სისტემის როლი ფსორიაზის მძიმე ფორმების განვითარებაში (შემთხვევა პრაქტიკიდან)

**ა. დაშუკი, ე. დობრჯანსკაია, ნ. პუსტოვაია**

*ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, დერმატოლოგიის, ვენეროლოგიის და შიდსის კათედრა, უკრაინა*

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ფსორიაზის დინამიკის თავისებურებების, მიზეზ-შედეგო-

ბრივი მექანიზმის, პროგრესირებისა და მძიმე ფორმების ჩამოყალიბების ანალიზი კლინიკური შემთხვევის ანამნეზის მაგალითზე, ასევე, კანის ფსორიაზული გამოვლინებების პროგრესირების ანალიზი მათ განვითარებაში სტრეს-რეაქციის როლის განსაზღვრით.

ჩატარებულია ფსიქოსომატური მდგომარეობის და ავადმყოფის იმუნოინფლემორული სისტემის კვლევა ფსორიაზით დაავადების დასაწყისში და კანის პროცესის რემისიის პერიოდში. პაციენტის სისხლის შრატში განსაზღვრულია ტრიგერული ციტოკინების (IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10, IL-17, TNF $\alpha$ ), სტრესული ჰორმონების – ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონის (აკტპ) და კორტიზოლის კონცენტრაცია, უჯრედულ-ჰუმორული

იმუნიტეტის მდგომარეობა (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, იმუნორეგულაციური ინდექსი, IgM, IgG).

კლინიკური კვლევის შედეგები ადასტურებს სტრეს-სისტემის აქტივაციას ფსორიაზის დროს, კერძოდ, IL-8-, IL-10- ის, TNF $\alpha$  - ის, აკტპ-ის და კორტიზოლის მაჩვენებლების მატებას IL-1 $\beta$ -, IL-17-ის შემცირებასთან ერთად, რაც მიუთითებს სტრეს-მარეალიზებელი მექანიზმების დადაბლაზე ფსორიაზის დროს, მიუხედავად კანზე ფსორიაზული პროცესის სტაბილიზებისა. ამრიგად, აღნიშნული მაჩვენებლები სტრეს-მარეალიზებელი სისტემის საკვანძო მედიატორებია და ასრულებს არაერთმნიშვნელოვან როლს ფსორიაზის მძიმე ფორმების განვითარებაში. მათი მრავალფეროვანი ეფექტები შემდგომ კვლევას საჭიროებს.

## THE ROLE OF PROCALCITONIN AND BLOOD LACTIC ACID VALUES IN PROGNOSIS OF SEPSIS AND SEPTIC SHOCK IN POLYTRAUMA PATIENTS

Kanashvili B., Saganelidze K., Ratiani L.

*New Vision University, Tbilisi, Georgia*

Trauma is the leading cause of death for people aged 1-44 years and 20% of trauma deaths occur in the late period, after the injury. It is usually the result of Septic Shock/ Sepsis, multi-system organ failure, or other complications [2].

Sepsis is life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to infection. Septic shock is a subset of sepsis with circulatory and cellular/metabolic dysfunction associated with a higher risk of mortality. Septic Shock and Sepsis are major healthcare problems. The Sepsis and Septic Shock continues to be a complication after traumatic injury and is associated with an increase in morbidity and mortality, and longer hospital stays [22].

In previous studies the blood culture, leukocyte counts and body fluid culture were used in the assessment and prognosis of patients with sepsis and septic shock, but these parameters had limited clinical application [4]. Procalcitonin is a hormonally inactive glycoprotein, which increases in critically ill patients [18,19]. In cases of Hypoxia and hypo perfusion of tissues the blood lactate is an important biomarker as well. Still in some cases severe hypoxia is not associated with higher blood lactic acid levels [12]. Monitoring these two biomarker levels and their correlations is useful in order to assess the severity and prognosis of critically ill patients with sepsis and septic shock [1,3,20,24]. It should be mentioned that the application value of this biomarkers in polytrauma induced sepsis and septic shock patients is unclear.

Based on the periodic measurement of these two basic biomarker levels and their correlations with the

other factors and indicators, the study intends to reveal the dynamic changes in the survival group. The study should be helpful for more making more accurate prognosis and for early detection of complications. An early identification and appropriate management are associated with the better outcomes.

**Material and methods.** 21 patients developed Sepsis/Septic shock after being hospitalized with the diagnosis of Polytrauma. The basic data of patients: sex, age, the cause of polytrauma, the source of infection and mean time to onset were studied. The majority of them were caused by Road-Traffic Accidents (RTA). The remaining part was caused by other blunt and penetrating injuries. All the patients were more than 18 years and received treatment by the International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock [5-7]. All the patients whose condition was satisfactory on the day 45 survived. In order to see the dynamic changes, the levels of indicators and biomarkers were studied on the 1<sup>st</sup>, 5<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 20<sup>th</sup>, 25<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup>, 35<sup>th</sup>, 40<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> days after admission. Pearson correlation was used in order to assess the association of the levels of procalcitonin, blood lactic acid and others.

The data were analyzed using the SPSS software, version 20.0. The measurement data were calculated as mean +/- standard deviation; the comparisons between the groups were made by the T-test and the comparison procalcitonin and the blood lactate levels at different time levels at different days were conducted with the use of the repeated measures. The Pearson correlation analysis

was used for detection of the prognostic correlations. The demonstrating statistical charts were made showing the changes of biomarkers at different points of time.

**Results and their discussion.** 21 survived patients with the diagnosis of Polytrauma induced septic shock were involved. The levels of procalcitonin and blood lactate were monitored from the first day of admission in ICU through 45<sup>th</sup> day.

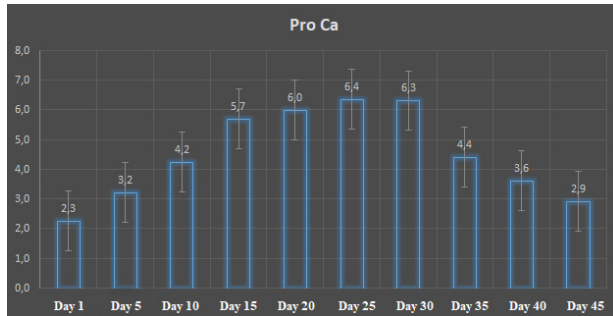


Fig. 1. The dynamic changes of procalcitonin levels

On the Fig. 1 we see how the procalcitonin level slowly changes during first 45 days - helpful to assess the severity and prognosis. The level achieves maximum from day 15 up to day 30 and decreases after in the survival group patients. The high initial level may be explained by the case of polytrauma. The level elevates during first 25 days and in survival patients decreases after a month. At the day 45<sup>th</sup> the level still does not return to normal. According to this chart we see significant deviation, which is likely caused by different types of polytrauma. Most of the patients were diagnosed to develop Sepsis/Septic Shock on approximately 9<sup>th</sup> day after admission. We can say that, the level of Pro Ca is always increasing after making the diagnosis of septic shock induced by polytrauma - making it more reliable to be the biomarker for inflammatory changes.

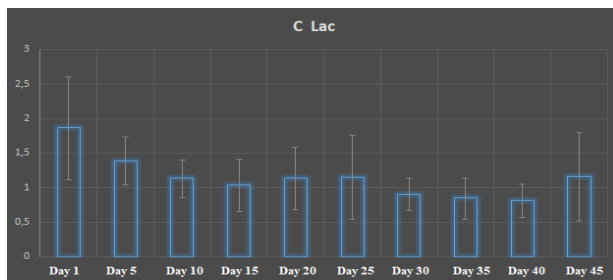


Fig. 2. The dynamic changes of Blood Lactic Acid levels

On the Fig. 2 we see that the Blood Lactic Acid level is initially high, explained by the diagnosis of polytrauma which is associated with high risk of hypoxia. After the patients were admitted to ICU, using the pulse-oxymeter the level of oxygenation was monitored and if needed the oxygen therapy was started immediately - normalizing the level of Blood Lactic Acid. We see no significant changes during the period of monitoring, explained by relevant ox-

xygen therapy. This plays crucial role in survival, because without adequate perfusion of tissues by oxygen and fluid levels antimicrobial treatment is not enough for providing good outcomes.

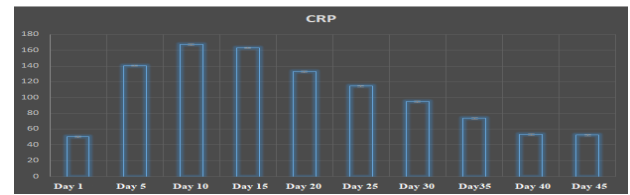


Fig. 3. The Dynamic Changes of C - reactive protein (CRP) Levels

CRP level is considered to be the indicator for the acute phase of pathology and we see it rises fast and first, followed by increase of Procalcitonin level - the biomarker for the severity of Sepsis and Septic shock. It rises significantly within first 5 days, achieves the maximum level at the days 10-15 and after that period of time decreases significantly in the survival group. When comparing Fig. 1 and Fig. 3, we can say that CRP is reacting fast to the inflammatory processes and after successful management it decreases fast. Procalcitonin level is increasing/decreasing more slowly.

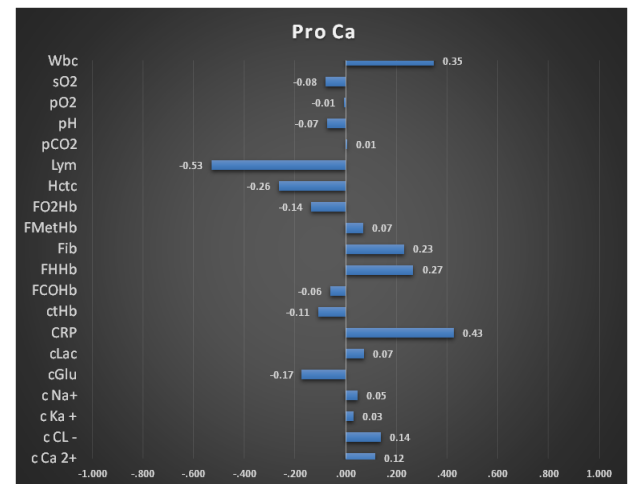


Fig. 4. The correlation of Procalcitonin Levels with the other Analysis

Fig. 4 demonstrates the correlation of procalcitonin level with the other factor and indicators. Pro Ca has strong positive correlation with White Blood Cells (WBC) and C - reactive protein (CRP). Also it has strong negative correlation with Lymphocytes (LYM). The correlation less than 0.35 are not enough for making further judgments. If WBC and CRP levels elevates, the same happens to Pro Ca. If the Lymphocyte level elevates, this is indicator for the good outcomes, as Pro Ca level decreases. The Lactate level does not change significantly after patient is having adequate oxygen therapy, so we did not measure the correlation between Blood Lactic Acid and other factors and indicators.

Sepsis and Septic Shock induced by Polytrauma is a critical condition with high rate of mortality [11,17]. The blood lactic acid level - mainly produced by erythrocyte, brain tissue and striated muscle, significantly rises in cases of tissue hypoxia - as a result of an anaerobic metabolism in the body. The degree of its changes in plasma depends on the metabolic rate of kidney and liver [9]. The prognosis and mortality of the patients is related with the high blood lactate acid level - biomarker of organ function and energy metabolism [10]. The presence of hypoxia and hypo perfusion in the tissues is associated with oxygen supply insufficient for metabolism, resulting in a significant elevation in the blood lactate acid level. In patients with septic shock the clearance of lactic acid in the liver is greatly weakened, thereby leading to a further rise in the blood lactic acid level [21]. Maintaining normal blood lactate level is important in patients with polytrauma induced sepsis or septic shock. Without having proper oxygenation, blood circulation and fluid volume levels, antimicrobial treatment is not enough to provide good outcomes [5-7]. In all survived patients the blood lactate level was successfully managed. The initial level was increased due to hypoxia within the first few hours after an accident. Blood lactate did not show significant changes in survived patients, because as soon as they were admitted to ICU paced on adequate oxygen therapy. As the level of Blood lactic acid did not change much and was normal during our period of monitoring, we did not study its correlation with the other analyzes results.

Recently the role of biomarker procalcitonin to assist in the diagnosis and management of infections has been extensively studied. Also it reveals complications at early stage. Thyroid C cells synthesize Procalcitonin the precursor of a calcitonin substance [8]. Different worldwide studies have shown that procalcitonin level is elevated in critically ill patients, including patients with: polytrauma, burns, medullary thyroid cancer and others [23]. Besides, procalcitonin can be used as an early indicator for the diagnosis and assessment of bacterial infectious diseases [14].

The procalcitonin levels decreased in dynamics significantly among the patients in the survival group [21]. It suggests lower procalcitonin level indicating better prognosis, which is consistent with that reported in previous literature [15].

Procalcitonin has a strong positive correlation with White Blood Cells (WBC) and C - reactive protein (CRP). Also it has strong negative correlation with Lymphocytes (LYM). In cases of Polytrauma induced sepsis or septic shock, it is high from the beginning and slowly increases within first 25 days. In cases of survival - decreases after 30 days. CRP Level as a specific factor showing the acute phase of inflammation, rises and decreases first followed by Procalcitonin level. The changes in WBC, CRP and LYM, as they strongly correlate with procalcitonin may

also are useful in order to make a better monitoring, early detection of complications and prognosis.

As an acute phase protein C-reactive protein (CRP) is directly related to the inflammatory response and it has been used to monitor the course of infection [13]. CRP has a strong positive correlation with the level of Procalcitonin. Using charts we can assume that, CRP level is changing fast as a marker of an ongoing inflammatory process, Procalcitonin is changing more slowly, but is a better indicator for the severity of infectious condition.

Monitoring the changes in the procalcitonin level is a helpful tool in the assessment of prognosis in patients with sepsis. Even more studies are needed to analyze the value of the blood lactate acid and procalcitonin levels across the patients with septic shock/sepsis and Polytrauma. In conclusion, monitoring of the blood lactate acid and procalcitonin levels plays an important role in assessing the prognosis of septic shock. Studies with larger sample size are expected to provide theoretical foundation for the management of septic shock.

## REFERENCE

1. A. Artero, R. Zaragoza, J. J. Camarena, S. Sancho, R. González, and J. M. Nogueira, "Prognostic factors of mortality in patients with community-acquired bloodstream infection with severe sepsis and septic shock. *Journal of Critical Care* 2010; vol. 25, no. 2: 276-281.
2. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Injury Prevention and Control. Web-based Injury Statistics Query and Reporting System (WISQARS) Injury Data. 2016
3. Çetinkaya M, Özkan H, Köksal N, et al. Comparison of serum amyloid A concentrations with those of C-reactive protein and procalcitonin in diagnosis and follow-up of neonatal sepsis in premature infants. *J Perinato*, 2009; 29(3): 225-231.
4. Craig N., Morrell A., Aggrey, Lesley M., Modjeski KL. *Blood* 2014; 123:2759-2767.
5. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*. 2013; 41(2):580-637.
6. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb S, Beale RJ, Vincent JL and Moreno R. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013; 39: 165-228.
7. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL and Moreno R. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med* 2013; 41: 580-637.
8. de Jong E, van Oers JA, Beishuizen A, et al. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial. *Lancet Infectious Dis* 2016; 16: 819-27.
9. Di Pasquale M, Ferrer M, Esperatti M, et al. Assessment of severity of ICU-acquired pneumonia and association with etiology. *Crit Care Med*. 2014;42:303-312.



10. Filho, Roberto Rabello; Rocha, Leonardo Lima; Corrêa, Thiago Domingos; Pessoa, Camila Menezes Souza; Colombo, Giancarlo; et al. Blood Lactate Levels Cutoff and Mortality Prediction in Sepsis—Time for a Reappraisal? a Retrospective Cohort Study. 2016 Vol. 46, Issue 5, P480-485
11. Hampshire PA, Guha A, Strong A, et al. An evaluation of the Charlson co-morbidity score for predicting sepsis after elective major surgery. *Indian J Crit Care Med* 2011;15(1):30-6.
12. Hernandez G, Castro R, Romero C, de la Hoz C, Angulo D, Aranguiz I, et al. Persistent sepsis-induced hypotension without hyperlactatemia: is it really septic shock? *J Crit Care.* 2011;26(4):435.e9-14.
13. Hoeboer SH, Groeneveld AB. Changes in circulating procalcitonin versus C-reactive protein in predicting evolution of infectious disease in febrile, critically ill patients. *PLoS One.* 2013;8:
14. Japiassu AM, Bozza FA. The many facets of procalcitonin in the critically ill population. *Crit Care Med* 2012;40:2903-05.
15. Karlsson S, Heikkinen M, Pettilä V, Alila S, Väisänen S, Pulkki K, et al. Predictive value of procalcitonin decrease in patients with severe sepsis: A prospective observational study. *Crit Care* 2010;14:R205.
16. Klein Klouwenberg PM, Ong DS, Bos LD, de Beer FM, van Hooijdonk RT, Huson MA, et al. Interobserver agreement of Centers for Disease Control and Prevention criteria for classifying infections in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2013;41(10):2373-8.
17. Mayr FB, Yende S and Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* 2014; 5: 4-11.
18. Osuchowski MF, Connert J, Welch K, et al. Stratification is the key: inflammatory biomarkers accurately direct immunomodulatory therapy in experimental sepsis. *Crit Care Med.* 2009;37:1567-73
19. Prkno A, Wacker C, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin-guided therapy in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock—a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2013;17(6):R291.
20. Riedel S, Melendez JH, An AT, Rosenbaum JE, Zenilman JM. Procalcitonin as a marker for the detection of bacteremia and sepsis in the emergency department. *Am. J. Clin. Pathol.* 135(2), 182-189 (2011).
21. Ruiz-Rodríguez JC, Caballero J, Ruiz-Sanmartin A, Ribas VJ, Pérez M, Bóveda JL, et al. Usefulness of procalcitonin clearance as a prognostic biomarker in septic shock. A prospective pilot study. *Med Intensiva.* 2012;36(7):475-80.
22. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315:762-774.
23. Suberviola B, Castellanos-Ortega A, Gonzalez-Castro A, Garcia-Astudillo LA, Fernandez-Miret B. Prognostic value of procalcitonin, C-reactive protein and leukocytes in septic shock. *Med Intensiva.* 2012;36(3):177-184.
24. Suzuki T, Israr MZ, Heaney LM, et al. Prognostic Role of Molecular Forms of B-Type Natriuretic Peptide in Acute Heart Failure. *Clin Chem* 2017;63:880-6.

## SUMMARY

### THE ROLE OF PROCALCITONIN AND BLOOD LACTIC ACID VALUES IN PROGNOSIS OF SEPSIS AND SEPTIC SHOCK IN POLYTRAUMA PATIENTS

**Kanashvili B., Saganelidze K., Ratiani L.**

*New Vision University, Tbilisi, Georgia*

Recently, the role of biomarkers to assist in the diagnosis and management of infections has been extensively explored. Based on the studies, Procalcitonin and Blood Lactic Acid can provide supportive data to clinical assessment in Polytrauma induced infectious pathology prevention, early evaluation, management of complications and predicting outcomes.

We studied the cases of 21 patients who developed Polytrauma induced Sepsis/Septic shock during different stages of hospitalization. We intended to study the dynamic level changes of Procalcitonin and Blood Lactic Acid in terms of Sepsis/Septic shock – induced by different types of trauma, in survived patients.

At the initial stage Blood Lactate level in polytrauma patients was high, which was dynamically normalized after starting optimization of ventilation/oxygen therapy. It was totally different in case of Biomarker Procalcitonin. So we monitored the dynamic changes of it and made the correlation between the other factors/indicators. The data was registered during the first 45 days after the admission in the ICU (intensive care unit), as all the patients who survived during this period of time had good outcome. In

order to see the dynamic changes, the levels of biomarkers were measured in every 5 days and were studied using Pearson correlation scheme.

The study revealed that normalization of Blood Lactic Acid is in positive correlation with reconvalescence.

Procalcitonin is an indicator of illness progression severity. It has strong positive correlation with White Blood Cells (WBC) and C-reactive protein (CRP) and negative correlation with Lymphocytes (LYM). In cases of Polytrauma induced sepsis or septic shock, the level started to increase within first 72 hours after traumatic injury, peak concentration was achieved within first 25 days high from the beginning and dynamically increases within first 25 days, the tendency of gradual decrease was seen after 30 days.

C-reactive protein as a nonspecific indicator of severity in pathology progression, was manifested with high levels first, followed by the procalcitonin level changes.

The systematic inflammation factors, like the number of Leukocytes and Lymphocytes, concentration of C-reactive protein are in correlation with procalcitonin and can play a significant role in early evaluation and management of polytrauma induced Sepsis and Septic Shock.

**Keywords:** Sepsis/Septic shock, polytrauma, biomarkers, Procalcitonin, Blood Lactic Acid.

## РЕЗЮМЕ

### РОЛЬ ПРОКАЛЬЦИТОНИНА И ЛАКТАТА В ПРОГНОЗЕ СЕПСИСА И СЕПТИЧЕСКОГО ШОКА У ПАЦИЕНТОВ С ПОЛИТРАВМОЙ

Канашвили Б.В., Саганелидзе Х.З., Ратиани Л.Р.

*Нью Вижен Университет, Тбилиси, Грузия*

В последние годы широко изучается роль прокальцитонина и молочной кислоты в диагностике и лечении инфекционных патологий. Прокальцитонин и лактат являются биомаркерами, которые обеспечивают раннюю диагностику и превенцию осложнений. Целью данного исследования явилось определение динамических изменений уровня прокальцитонина и лактата у пациентов с травмой, индуцированной сепсис/септическим шоком.

Проанализированы истории болезни 21 пациента, у которых на ранних стадиях развился индуцированный политравмой сепсис/септический шок. Изучались динамические изменения уровня прокальцитонина и молочной кислоты. Обнаружено, что у большинства пациентов с политравмой был высокий исходный показатель уровня лактата, который в динамике нормализовался в результате адекватной оксигенотерапии. Наблюдались также динамические изменения и корреляция уровня прокальцитонина с другими факторами. Уровень метаболизма изучался в течение первых 45 дней после помещения больного в отделение интенсивной терапии. С целью наблюдения пациентов в динамике каждые 5 дней осуществлялись измерение и обработка биохимических маркеров.

Выявлено, что реконвалесценция находится в прямой зависимости от нормализации уровня лактата.

Прокальцитонин является индикатором острого течения заболевания, находится в прямой корреляции с показателями лейкоцитов и С-реактивного белка и в обратной корреляции - с лимфоцитами. При сепсис/септическом шоке, индуцированным политравмой, уровень прокальцитонина повышается в первые 72 часа, достигая пика в течение 25 дней, а тенденция понижения выявляется по окончании 30 дней.

В первую очередь, выявляется повышение неспецифического индикатора С-реактивного белка, затем следует изменение уровня прокальцитонина.

Системные факторы воспаления, в частности количество лейкоцитов и лимфоцитов, концентрация С-реактивного белка находятся в корреляции с прокальцитонином и выполняют значительную роль в диагностике и лечении сепсиса/септического шока.

## რეზიუმე

პოლიტრავმულ პაციენტებში პროკალციტონინის და ლაქტატის როლის განსაზღვრა სეფსის და სეპტიური შოკის პროგნოზირებაში

ბ. კანაშვილი, ხ. საგანელიძე, ლ. რატიანი

ნიუ ვიჯენის უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

ანთებით ბიომარკერებს უჭირავს განსაკუთრებული ადგილი ინფექციური პათოლოგიების დიაგნოსტიკასა და მენეჯმენტში. პროკალციტონინი და ლაქტატი წარმოადგენენ იმ ინდიკატორებს, რომლებიც ასრულებენ მნიშვნელოვან როლს პოლიტრავმით ინდუცირებული ინფექციური პათოლოგიების პრევენციაში, ადრეულ დიაგნოსტიკაში, გართულებათა მენეჯმენტში და გამოსავლის პროგნოზირებაში.

შესწავლილია 21 პაციენტის შემთხვევა, რომელთაც დაავადების მიმდინარეობის და პოსპიტალიზაციის სხვადასხვა ეტაპზე განუვითარდათ პოლიტრავმით ინდუცირებული სეფსისი/სეპტიური შოკი. აღნიშნული კვლევის მიზანს წარმოადგენდა გადარჩენილ პაციენტებში ტრავმის სხვადასხვა მექანიზმების შედეგად ინდუცირებული სეფსისის/სეპტიური შოკის პირობებში, პროკალციტონინის და ლაქტატის დონეების დინამიური ცვლილებების შესწავლა. საწყის ეტაპზე პოლიტრავმულ პაციენტთა უმეტეს ნაწილს აღმოაჩნდა ლაქტატის დონის მაღალი მაჩვენებელი, რაც შესაბამისი ოქსი-გენოთერაპიის/ვენტილაციის ოპტიმიზაციის შედეგად დინამიკაში ნორმალიზდა. ბიომარკერ პროკალციტონინის შემთხვევაში დადგინდა საპირისპირო. დინამიკაში სორციელდებოდა სხვა-დასხვა ანთებით ფაქტორებთან კორელაციის შესწავლა. ინტენსიური თერაპიის განყოფილებაში მოთავსებიდან პირველი 45 დღის მანძილზე ხდებოდა მონაცემთა რეგისტრაცია, ვინაიდან ამ პერიოდში ყველა პაციენტს ჰქონდა კარგი გამოსავალი. დინამიურ ცვლილებებზე დაკვირვების მიზნით, ყოველ 5 დღეში ერთხელ ხდებოდა ბიო-ქიმიური მარკერების განსაზღვრა და დამუშავება პირსონის კორელაციის ინდექსის გამოყენებით.

კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ლაქტატის დონის ნორმალიზება პირდაპირპროპორციულ კორელაციაში იყო რეკონვალესცენციასთან. პროკალციტონინი წარმოადგენს დაავადების მწვავედ მიმდინარეობის ინდიკატორს, გააჩნია პირდაპირპროპორციული კორელაცია ლეიკოციტებთან, C-რეაქტიულ ცილასთან და უკუპროპორციული კორელაცია ლიმფოციტებთან. პოლიტრავმით ინდუცირებული სეფსისის ან სეპტიური შოკის შემთხვევაში პროკალციტონინის დონე მატულობს

ტრავმული დაზიანებიდან 72 საათის განმავლობაში, პიკურ კონცენტრაციას აღწევს პირველი 25 დღის განმავლობაში, ხოლო კვების ტენდენცია შეინიშნება 30 დღის შემდეგ. პათოლოგიის მიმდინარეობის სიმწვავის არასპეციფიური ინდიკატორ C-რეაქტიული ცილის მაღალი დონის მანიფესტაცია ხდება ყველაზე სწრაფად, რასაც შემდგომში

თან ახლავს პროკალციტონინის დონის ცვლილებები. სისტემური ანთებითი ფაქტორები, კერძოდ ლეიკოციტების და ლიმფოციტების რაოდენობა, C-რეაქტიული ცილის კონცენტრაცია კორელაციაშია პროკალციტონინთან და მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ სეფსისის/სეპტიური შოკის ადრულ დიაგნოსტიკაში და მართვაში.

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ТЯЖЕЛОЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Шнайдер К.В., Моренко М.А., Ковзель Е.Ф., Гатауова М.Р., Усенова О.П.

*АО «Медицинский Университет Астана», кафедра детских болезней №1, Казахстан*

Тяжелая комбинированная иммунная недостаточность может быть вызвана множеством различных генетических нарушений [1,4,5], которые приводят к чрезвычайной чувствительности и тяжелым инфекциям. Это состояние считается самым сложным из всех первичных иммунодефицитов. Для лечения этого нарушения существуют эффективные методы: трансплантация костного мозга, а в будущем возможно применение генной терапии [3,6]. Тяжелая комбинированная иммунная недостаточность (ТКИН) является редким смертельным синдромом, обусловленным различными генетическими факторами, сочетающим отсутствие функций Т- и В- лимфоцитов, а в некоторых случаях и функции естественных киллеров (НК-лимфоцитов) [2]. В настоящее время известны 12 генетических причин ТКИН. Несмотря на их различие в конкретных дефектах, приводящих к иммунной недостаточности, некоторых данных лабораторных исследований и типах наследования, для всех из них характерны тяжелые нарушения функций Т- и В-лимфоцитов [9].

Недостаточность общей гамма-цепи 6 различных цитокинов - самая частая форма ТКИН, на долю которой приходится примерно 45% всех случаев, обусловлена мутацией гена в X-хромосоме, кодирующего компонент (или цепь), который имеется в рецепторе фактора роста Т-клеток, а также в рецепторах других факторов роста. Этот компонент обозначается как общая гамма-цепь. Мутации этого гена приводят к очень низкому числу Т-и НК-лимфоцитов при большом количестве В-лимфоцитов (Т-, В+, НК- фенотип). Несмотря на большое количество В-лимфоцитов, их функция отсутствует, так как Т-клетки не могут “помочь” В-клеткам функционировать правильно. Это нарушение наследуется как сцепленный с X-хромосомой рецессивный признак. Этот тип ТКИН бывает только у мужчин, однако женщины могут быть носителями этого гена и передают его каждому сыну с вероятностью 1 из 2 (50%) [8].

Особый интерес за последнее десятилетие приобрел скрининг первичных иммунодефицитов методом определения универсального маркера Т-клеточных иммунодефицитов – «Т-рецепторных эксцизионных колец» (T-cell receptor excision circle — TREC), который служит своеобразным маркером реаранжировки генов TCR. TREC на уровне популяции Т-клеток показывает содержание недавних эмигрантов из тимуса (RTE) [13,14], а В-клеточные эксцизионные кольца (kappa-deleting recombination excision circles - KREC) являются суррогатным маркером эффективности развития В-клеточного звена иммунной системы в процессе эмбриогенеза [7,10]. Измерение количества TREC и KREC методом количественной полимеразной цепной реакции позволяет выявить клетки, недавно вышедшие из тимуса, и оценить функциональную активность тимуса [16,17]. Таким образом, концентрацию TREC и KREC в периферической крови можно рассматривать как показатель пролиферации лимфоцитов и суррогатный маркер нормального развития иммунной системы [12,15].

Как известно наиболее успешным методом лечения ТКИН является восстановление иммунитета трансплантацией костного мозга. При трансплантации костного мозга клетки костного мозга нормального донора вводят пациенту с нарушением иммунитета с целью замены дефектных лимфоцитов нормальными клетками иммунной системы донора [11]. Цель трансплантации при ТКИН - коррекция нарушений иммунитета.

За последние 30 лет выполнены сотни пересадок костного мозга детям с ТКИН, в этих случаях общая выживаемость составила 60-70%. Однако наилучшие результаты обеспечивает пересадка от совместимого донора (брат или сестра, успех более 85%), а также пересадка вскоре после рождения и до возраста 3,5 месяцев (более чем 96% выживание, даже в случае частичной совместимости). Для лечения ТКИН с успехом применялась трансплантация HLA-совместимого

Таблица . Иммунограмма на +65 день (10.05.2017)

Наименование	08.09.2016	10.05.2017	Норма %, абс.
Т-лимфоциты зрелые (CD3+CD19-)	85,27(0,68)	82,2 %(0,41)	60-80 (0,800-4,500)
В-лимфоциты (CD3-CD19+)	6,16% ( 0,04)	1,3% (0)	21-28 (0,20-2,10)
Т-helper (CD4+CD3+)	8,03% % (0,06)	48,5% (0,24)	35-51 (0,5-2,4)
Т-цитотокс. (CD3+CD8+)	73,12% (0,58)	35,9(0,17)	22,0-38,0 (0,300-1,800)
Незрелые Т-лимфоциты (CD4+CD8+)		-	-
ИРИ (CD4/CD8)	0,1 %	(1,35)	(1,2-2,0)
CD3+ HLA-DR + (активированные Т-лимфоциты)	67,35% (0,53)	35,12% (0,17)	3,0-13,0 (0,10-0,68)
CD3- HLA-DR + (активированные В и NK)	6,26 % (0,05)	2,18% (0,01)	5,0-20,0 (0,10-0,43)
NK (CD16+56+)-натуральные киллеры	0% (0,0)	7,9 (0,03)	4,0-23,0 (0,1-1,0)
Т-киллеры CD3+/CD16+56+		(<10)	(<10)

костного мозга или пуповинной крови от доноров-неродственников [7,8].

За последние два десятилетия исследован еще один метод лечения - генная терапия. Описаны успешные случаи применения генной терапии как при Х-сцепленной, так и АДА-дефицитной ТКИН. Однако исследования в этой области продолжаются с целью повышения безопасности этого метода лечения. Генную терапию можно применять только после определения поврежденного гена, в связи с чем молекулярные методы диагностики приобретают большое значение [6,9].

**Случай из практики.** От родителей пациента получено письменное информированное согласие на публикацию данного клинического случая.

Ребенок от 3 беременности и 3 родов (I беременность – выкидыш, II ребенок умер в возрасте 5 месяцев, со слов матери, после перенесенной инфекции). Рост при рождении 52 см, вес - 3380 гр. Состояние при выписке удовлетворительное. Привит по календарю в роддоме: БЦЖ + ВГВ. Ребенок болеет с 4-месячного возраста, когда впервые отмечен жидкий стул с зловонным запахом, кашель, дистанционные хрипы, повышение температуры тела до фебрильных цифр; с 5-месячного возраста присоединяется сыпь папулезного характера по всему телу. В последующем ребенок постоянного госпитализируется в клинические больницы по месту жительства с диагнозами острый бронхит, двусторонняя пневмония, энтероколит.

Ребенок более 10 раз госпитализировался в различные клинические больницы с разными диагнозами и только к 4 месяцам жизни был предположен диагноз: первичный комбинированный иммунодефицит.

Проведен общий анализ крови: Нв-118 г/л; Лс-3,25\*10<sup>9</sup>/л; Тр-177тыс.; с/я-47,5%; Лф-22,5%; м-20%; п/я 2,5%; умеренная лейкопения. В дальнейшем в общем анализе крови отмечается снижение тромбоцитов. Биохимия крови: IgA - 0.00г/л; IgM - 0,65 г/л IgG- 9,06г/л. Иммунофенотипирование: Т- лимфо-

циты зрелые CD3+19- 95%; Т- лимфоциты зрелые CD3+19-abs 1.61\*10<sup>9</sup>/л ; В- лимфоциты CD3+19- 3,7; В- лимфоциты зрелые CD 3+19-abs 0,06\*10<sup>9</sup>/л; Т- хелперы CD3+ CD4+ 9,8%; Т- хелперы CD3+ CD4+ abs 0,16\*10<sup>9</sup>/л; Т- цитотоксические CD3+ CD8+ 79,6%; Т- цитотоксические CD3+ CD8+ abs 13,5\*10<sup>9</sup>/л; NK-клетки CD3- CD16+ / CD56+ 0,10%; NK-клетки CD3- CD16+ / CD56+ abs 0,0\*10<sup>9</sup>/л.

Затем ребенку проведен молекулярный анализ TREC и KREC, для этого использованы карточки Гатри с сухими каплями крови пациента и образцы сухих капель крови здоровых детей в качестве контроля. Количественное определение содержания копий TREC и KREC в образце методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией включает в себя этапы: экстракцию ДНК из образцов цельной крови или сухих пятен крови на фильтровальной бумаге (карты Гатри), амплификацию участков молекул TREC и KREC с одновременной гибридационно-флуоресцентной детекцией. В ходе ПЦР также происходит амплификация участка гена человека Альбумин (ALB) - эндогенный внутренний контроль, который позволяет следить за этапами экстракции ДНК и проведения ПЦР, отсутствием в образце ингибиторов ПЦР и оценить адекватность забора и количество материала. С учетом эндогенного контроля происходит пересчет количества копий TREC и KREC в исходном образце.

Результаты выявили наличие В-клеток (KREC 3,15E-01+00/ 10<sup>6</sup>копий) и полное отсутствие Т-клеток (TREC0,00E+00/ 10<sup>6</sup>копий). Проведена консультация и обследование периферической крови пациента в Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Рогачева, (Москва). По результатам обследования установлено отсутствие рецепторов Т-клеток и наличие рецепторов В-клеток, несмотря на их практически полное отсутствие в крови. Наличие В-клеточных рецепторов при отсутствии В-клеток является вторичным состо-



янием. Отсутствие Т-клеточных рецепторов при наличии Т-клеток позволяет судить об их полной нефункциональности. Таким образом, диагноз тяжелая комбинированная иммунная недостаточность не вызывает сомнений. Фенотип Т-В+НК+ в 90% случаев соответствует мутации, которая приводит к отсутствию гамма-цепи на Т-клеточном рецепторе и является X-сцепленной проблемой, т.е. мальчики в этой семье имеют риск развития аналогичной проблемы. Таким образом, диагноз пациента звучит: тяжелая комбинированная иммунная недостаточность, фенотип Т-В+НК+, X-сцепленная форма.

Единственным методом терапии тяжелой комбинированной иммунной недостаточности является трансплантация стволовых кроветворных клеток костного мозга. Учитывая отсутствие совместимого донора (проведен поиск донора в российском и международном регистре доноров), решено проведение гаплогенной трансплантации от неродной сестры.

После проведения трансплантации костного мозга у ребенка отмечается клинико-гематологическое улучшение состояния. В общем анализе крови: показатели стабильные, в иммунограмме - появление Т- и НК-клеток.

На + 85 день у ребенка 100% донорский химеризм и 100% приживление донорского костного мозга. Ребенок выписан из стационара с рекомендациями и продолжением с целью профилактики реакции «трансплантат против хозяина» перорального приема прографа.

**Выводы.** 1. Несмотря на увеличение количества пациентов с верифицированным диагнозом - первичные иммунодефициты и учитывая международную практику, следует констатировать гиподиагностику данного заболевания в Республике Казахстан.

2. Современный молекулярный метод выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты из сухих пятен крови, нанесенных на тест-бланки, позволяет количественно оценить содержания кольцевых участков дезоксирибонуклеиновой кислоты TREC и KREC. Низкие или недетектируемые уровни кольцевых участков дезоксирибонуклеиновой кислоты TREC и KREC рецепторов лимфоцитов в сухих пятнах крови являются достоверными признаками первичных Т- и В-клеточных иммунодефицитов.

3. Трансплантация костного мозга при успешном восстановлении системы лимфоцитов уменьшает риск смертельных исходов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аллергология и иммунология: клинические рекомендации для педиатров / Под ред. А.А. Баранова и Р.М. Хаитова. – М.: М-Студио, 2011. – 248 с.
2. Блинова Е.А. Количество TREC в периферических Т-лимфоцитах человека в норме и при иммунопатологических состояниях : автореф. дис. канд. биол. наук : 14.03.09. – Новосибирск, 2012. – С.3-5.
3. Донецкова А.Д. Тимусные эксцизионные кольца в лимфоцитах периферической крови, возрастная динамика и влияние тимэктомии / А.Д. Донецкова, А.Л. Флоренко, В.В. Трошина, А.И. Смолягин, А.А. Ярилин // Иммунология. - 2010. - №6. - Т. 31. - С. 293-299.
4. Чурина М.А. Молекулярно-генетическая диагностика первичных иммунодефицитов / Чурина М.А., Останкова Ю.В., Семенов А.В., Гусева М.Н., Тотолян А.А. // Медицинская иммунология. - 2015. – Т. 17. – 240с.
5. Шарапова С.О., Гурьянова И.Е., Романцова А.С., Мигас А.А., Шепелевич Е.В., Белевцев М.В. Результаты генетического консультирования и пренатальной диагностики в семьях с X-сцепленными первичными иммунодефицитами у детей // Достижения медицинской науки Белоруссии. - 2012. - №17 – С.51-55.
6. Ярилин А.А. Т-клетки — недавние эмигранты из тимуса / А.А. Ярилин, А.Д. Донецкова // Иммунология. - 2012. - Т.33. - №6. - С. 326-334.
7. Al-Herz W., Bousfiha A., Casanova J.L. et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front. Immunol.* – 2011. – №2 – p.54
8. Bousfiha A.A., Jeddane L., Ailal F., Benhsaien I., Mahlaoui N., Casanova J.L., et al. Primary immunodeficiency diseases worldwide: more common than generally thought // *J Clin Immunol.* – 2013. – Vol. 33, №1. – P. 1–7.6.
9. Buckley R.H. Primary immunodeficiency or not? Making the correct diagnosis // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – № 117 (4). – P. 756-758.
10. Buckley R.H. Transplantation of hematopoietic stem cells in human severe combined immunodeficiency: longterm outcomes // *Immunol Res.* - 2011. – Vol.49. – P. 25-43.
11. Chan A., Scalchunes C., Boyle M., Puck J.M. Early vs delayed diagnosis of severe combined immunodeficiency: a family perspective survey // *Clin Immunol.* - 2011. - Vol. 138, №1. - P. 3-8.
12. Gathmann B., Binder N., Ehl S., Kindle G. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: update 2011 // *Clinical and experimental immunology.* - 2012.- Vol. - 167. - P. 479-91.
13. Inborn Errors Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation; European Society for Immunodeficiency. Transplantation of hematopoietic stem cells and longterm survival for primary immunodeficiencies in Europe: entering a new century, do we do better? *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 126:602.
14. Lee W.I., Huang J.L., Yeh K.W., Cheng P.J., Jaing T.H., Lin S.J., Chen L.C., Ou L.S., Yao T.C. The effects of prenatal genetic analysis on fetuses born to carrier mothers with primary immunodeficiency diseases // *Ann Med.* – 2016. – Vol.48, №1-2. – P. 103-110.
15. McGhee S.A., Stiehm E.R., Cowan M., et al. Two-tiered universal newborn screening strategy for severe combined immunodeficiency // *Mol Genet Metab.* - 2009. - Vol. 86. - P. 427 –430.
16. Ou X., Zhao H., Sun H., Yang Z., Xie B., Shi Y., Wu X. Detection and quantification of the age-related sjTREC decline in human peripheral blood // *International Journal of Legal Medicine.* - 2011. - Vol. 125. - P. 603-608.
17. Ou X.L., Gao J., Wang H., Wang H.S., Lu H.L., Sun H.Y. Predicting human age with bloodstains by TREC quantification // *PLoS ONE.* - 2012. - Vol. 7, №8. - P. E42412.

## SUMMARY

### CLINICAL CASE OF SEVERE COMBINED IMMUNE DEFICIENCY

**Shnayder K., Morenko M., Kovzel E., Gatauova M., Usenova O.**

*JSC "Medical University Astana", Department of Children's Diseases №1, Kazakhstan*

In connection with the urgency of early diagnosis of severe combined immune deficiency, the case from the clinical practice of the National Science Center for Maternity and Childhood, Astana, was considered. This clinical case indicates that it is difficult to verify the diagnosis of severe combined failure, as the child was hospitalized in city clinics with various infectious diseases before receiving the right treatment more than 10 times in 4 months of life. Also, this clinical example confirms that the most effective method of treating this disorder at the present stage is bone marrow transplantation. With all medical prescriptions and recommendations, a complete restoration of the immune system is possible.

**Keywords:** primary immunodeficiencies, severe combined immune deficiency, bone marrow transplantation.

## РЕЗЮМЕ

### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ТЯЖЕЛОЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

**Шнайдер К.В., Моренко М.А., Ковзель Е.Ф., Гатауова М.Р., Усенова О.П.**

*АО «Медицинский Университет Астана», кафедра детских болезней №1, Казахстан*

Тяжелая комбинированная иммунная недостаточность (ТКИН) - редкий вид первичного иммунодефицита, сочетающий отсутствие функций Т- и В-лимфоцитов, редкий врожденный синдром, который характеризуется глубоким дефицитом клеточного и гуморального иммунитета. Несколько молекулярных дефектов, ответственных за ТКИН, идентифицированы недавно. X-сцепленные ТКИН составляют 46%

всех случаев и обусловлены дефектами в цепи (γс), общей для рецепторов интерлейкина-2 (IL-2), IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, и IL-21.

Описан клинический случай ТКИН. Установлено, что несмотря на увеличение количества пациентов с верифицированным диагнозом - первичные иммунодефициты и учитывая международную практику, следует констатировать гиподиагностику данного заболевания в Республике Казахстан.

Современный молекулярный метод выделения ДНК из сухих пятен крови, нанесенных на тест-бланки, позволяет количественно оценить содержания кольцевых участков ДНК TREC и KREC. Низкие или недетектируемые уровни кольцевых участков дезоксирибонуклеиновой кислоты TREC и KREC рецепторов лимфоцитов в сухих пятнах крови являются достоверными признаками первичных Т- и В-клеточных иммунодефицитов. Трансплантация костного мозга при успешном восстановлении системы лимфоцитов уменьшает риск смертельных исходов.

რეზიუმე

მძიმე კომბინირებული იმუნოდეფიციტის კლინიკური შემთხვევა

კ. შნაიდერი, მ. მორენკო, ე. კოვზელი, მ. გუტაუოვა, ო. უსენოვა

სს «სამედიცინო უნივერსიტეტი ასტანა», ბავშვთა დაავადებების დეპარტამენტი №1, ყაზახეთი

მძიმე კომბინირებული იმუნური უკმარისობა (მკიუ) წარმოადგენს პირველადი იმუნოდეფიციტის იშვიათ სახეობას, ხასიათდება უჯრედული და ჰუმორული ღრმა დეფიციტით. ავტორების მიერ მოყვანილია აღნიშნული დაავადებით ახალშობილის შემთხვევა, როდესაც ბავშვი იყო ჰოსპიტალიზირებული 10-ჯერ და დიაგნოზი იყო დასმული მხოლოდ 4 თვის შემდეგ.

ბავშვს გაუკეთდა ძვლის ტვინის გადანერგვა. 85 დღეზე გაწერილი იყო სტაციონარიდან დამაყმაყოფილებელ მდგომარეობაში.

აღნიშნული შემთხვევის ანალიზზე დაყრდნობით სტატიის ავტორებს გამოტანილი აქვთ დასკვნა, რომ ძვლის ტვინის გადანერგვა უზრუნველყოფს ლიმფოციტების სისტემის აღდგენას და ამცირებს ლეტალობას.

## PHARMACOGENETIC EFFECTS OF METHOTREXATE IN UKRAINIAN PATIENTS DEPENDING ON THE MTHFR GENOTYPES (CLINICAL CASES)

<sup>1</sup>Fedota O., <sup>2</sup>Roschenyuk L., <sup>1</sup>Tyzhnenko T., <sup>3</sup>Merenkova I., <sup>2</sup>Vorontsov V.

<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkiv National University; <sup>2</sup>Kharkiv regional clinical skin and venereal diseases dispensary №1;

<sup>3</sup>The municipal institution of health protection «Kharkov City Maternity Hospital №1», Ukraine

Modern pharmacotherapy has achieved great success in the treatment of various diseases. Nevertheless, doctors all over the world, when prescribing medications, are confronted with the problem that the choice of medication and the dosage regimen is empirically carried out. This is due to the fact that often “sensitivity” to a medicine means purely individual. However, it was found that variability in drug response in individual patients determined by genetic characteristics of patients about half of the “unfavorable” responses of the human body [9].

Lately pharmacogenetics is actively growing, due to the expansion of knowledge in the field of genomics, a partial transcript of the pathogenesis of multifactorial diseases. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) could be used as predictors of patients’ therapeutic outcome variability. Pharmacogenetic testing is used to identify genetic variants that lead to a change in the activity of proteins that play a role in the pharmacokinetics and pharmacogenetics of a drug.

It is well known that interindividual variability can affect the response to many drugs in relation to age, gender, diet, and organ function. Pharmacogenomic studies have also documented that genetic polymorphisms can exert clinically significant effects in terms of drug resistance, efficacy and toxicity by modifying the expression of critical gene products – drug-metabolizing enzymes, transporters, and target molecules, as well as pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. Clinical evidence suggests that common polymorphisms in the folate gene pathway are associated with an altered response to methotrexate (MTX) in patients with different disease [25].

Polymorphisms of different genes involved in mechanism of methotrexate action could potentially be responsible for methotrexate resistance or an increased risk of adverse events in patients with different disorders. Polymorphisms in one-carbon metabolism genes are formed the unequal sensitivity to drugs and have pharmacogenetic value. It is known that C677T polymorphism affects the effectiveness of anticancer agents from the group of antimetabolites, for example fluorouracil, methotrexate [13,29].

Methotrexate (MTX) as a folate inhibitor is used successfully in treating a great variety of malignancies and autoimmune diseases. However, there are certain drawbacks to its use, as a significant percentage of patients do not respond to the therapy or develop serious adverse effects [14].

There is evidence of the successful use of MTX for multifactorial dermatoses - psoriasis, atopic dermatitis

and others. Adult-onset atopic dermatitis and idiopathic eczema of the elderly may be recalcitrant to classic treatment modalities, thus requiring adjuvant therapy. Methotrexate used successfully in T cell-mediated skin disease is a reasonable candidate. According to L. Zoller et al. (2008) study of atopic dermatitis, initial response was evident after 3–7 weeks after the initiation of therapy. All patients responded to methotrexate, the clinical response was maintained throughout the entire period of treatment except in one patient whose condition worsened while on maximal methotrexate therapy. No serious adverse events were noted and the treatment was well tolerated by the patients [32].

Goujon and co-workers (2006), conducted an open retrospective study of 20 patients with adult atopic dermatitis. In this large series methotrexate was beneficial in 75% of patients, most of whom achieved significant improvement (> 70% improvement) [16]. Like the studies Goujon et al. (2006), in L. Zoller et al. (2008) the initial response was evident between the fourth and the eighth week after treatment was initiated. In their series, however, 25% suffered side effects, mostly nausea and elevated liver enzymes, and discontinuation was required in two patients (10%) [16,32].

According to several authors, high therapeutic efficacy of methotrexate in psoriasis treatment is proved in numerous researches. Until now it remains the chosen drug in the treatment of patients with severe forms of the disease [1, 2]. On the other hand, while many effective methods currently available for the treatment of psoriasis, response to therapy varies among patients. The genetic component underlying the response to drug therapy in psoriasis gradually begins. Identification of genetic variants has the potential to improve the management of patient care, identifying which patients should avoid a particular drug and which patients should be administered a modified dose. A suitable approach in the implementation of this strategy has the potential to reduce medical costs and improve the success of drug therapy [24].

It is also known about the use of MTX for pathologies in obstetrics and gynecology. The literature presents data on the effects of MTX in women with caesarean section. The target tissue of MTX is the villous trophoblast of the blastocyst implantation site, leading to the placental differentiation within the cesarean scar niche. The placental growth inhibition leads to pregnancy termination and it represents the key measure to reduce the risks of uterine wall rupture and hemorrhage. According to the authors, the main metabolic pathway leading to MTX cytotoxicity

is represented by a tight but reversible inhibition of DHFR (DHFR gene, 5q14.1, OMIM, 126060). The DHFR enzyme plays a key role in maintaining intracellular folate homeostasis and it is responsible for the conversion of dihydrofolate substrates to tetrahydrofolates. Driving MTX directly to the target tissue may lead to an excess of free drug cell concentration required to fully inhibit the enzyme, potentially enhancing its clinical effectiveness. [15].

Lately, the problem of ectopic pregnancy (EP) has become urgent. This is explained by the fact that in recent years the number of women suffering from this type of pathology of pregnancy is increasing more and more [18].

Treatment with MTX proved to be an effective and safe method of therapy for ectopic pregnancy. First used in 1982, it became the usual treatment option for properly selected patients. In addition to using methotrexate as the main drug for the treatment of ectopic pregnancy, including with unusual localization [8]. In the same time, treatment with methotrexate has been associated with hepatic, pulmonary and bone marrow toxicity, as well as teratogenicity [21].

In a study conducted by Demirdag et al. (2017) treatment of EP with either expectant management or systemic MTX is equally effective as compared to surgery. Spontaneous intrauterine pregnancy rates were comparable in expectant management, systemic methotrexate and surgery [11]. Human EP is a leading cause of pregnancy-related death, but the molecular basis underlying the onset of tubal EP is largely unknown [12]. In spite of many years of research on ectopic pregnancies, understanding of the pathophysiology of this disease remains still important [30], and gene regulation, signaling pathways, and cellular mechanisms in the development of ectopic pregnancy have not been adequately studied. Feng Y. and co-authors (2013) have suggested that changes in miRNA levels by the DICER-mediated (Dicer and Drosha, two RNase III enzymes, are key regulators that are responsible for miRNA maturation and function) miRNA-processing machinery result in aberrant expression of cell type-specific proteins that are potentially involved in the onset of tubal EP. According to the authors, the described molecular mechanisms of ectopic pregnancy can serve as a target for MTX for the effective treatment of a pathological condition [10, 12].

In Ukraine, MTX is not popular for the treatment of ectopic pregnancy and is rarely used [3]. Perhaps, this is due to the significant financial costs that accompany drug therapy, lack of gynecologists' experience with methotrexate and possible side effects. But probably the most important reason, the lack of demand for methotrexate in Ukraine, is the late diagnosis of ectopic pregnancy. However, it is difficult to predict the response to this drug based on clinical manifestations.

We investigated one-carbon metabolism genes that have different ethnic and geographical features of alleles and genotypes frequencies distribution. Currently, there is no evidence of the effectiveness of MTX in various pathologies, depending on genotypes for the MTHFR gene

in Ukrainian patients. In this regard, a pharmacogenetics study of the MTX effects in Ukrainian patients will allow the development of effective and targeted therapeutic strategies.

This work aim is an evaluation the influence of MTHFR gene polymorphisms to the response of Ukrainian patients to methotrexate.

**Material and methods.** The study group included unrelated Ukrainian patients with dermatoses - psoriasis vulgaris, psoriasis arthritis, psoriasis erythrodermic, atopic dermatitis, scleroderma, eczema, flat lichen and ectopic pregnancy. All patients are inhabitants of Kharkiv region. Patients with dermatoses age ranged from 20 to 64 years, a mean age of  $47.1 \pm 2.6$  years. Women with ectopic pregnancy was 25 years old. Standard biochemical indicators of metabolism are evaluated according to the protocol [4,5]. Ultrasound examination was conducted with Mindray7MC. All patients were examined in a retrospective analysis. Patients were genotyped for C677T (rs1801133) and A1298C (rs1801131) of MTHFR gene by the PCR-RFLP method, as presented earlier by us [7]. The materials for this study are based on the accumulated data from clinical observations of different reactions of patients with dermatoses and ectopic pregnancies when using methotrexate as the basic therapy according protocols [4,5].

The normal distribution of variances was tested before further statistical analyses by the Shapiro-Wilk tests. T-test was used to determine whether there is a significant difference between the means of two groups. All statistical tests were two tailed and a probability (p) value of 5% or less was considered statistically significant.

**Results and their discussion.** In this paper, we present the most frequent examples of patients with their genetic and clinical characteristics in our practice. The analysis of the results obtained in the retrospective study indicated that MTX-treated patients had shown different clinical and biochemical parameters depending on genotypes or haplotypes of *MTHFR* gene.

We examined the differences in patients, who taking MTX, in CC versus (CT+TT) for the *MTHFR* 677C>T and AA versus (AC+CC) for the *MTHFR* 1298A>C polymorphisms. This process corresponded to a dominant model that assumes a dominant effect of the minor allele [27]. In patients of our study, who taking methotrexate and no side effects are observed we found genotypes homozygous for a wild-type allele or heterozygous. For patients with psoriasis the TT and CC genotypes of C677T and A1298C, respectively, in *MTHFR* gene were not seen in any case. In all patients, there were no changes in the parameters of the clinical blood test, except for thrombocytopenia and leukocytopenia in patient B, so his treatment was interrupted despite improvement in the course of the disease.

In patients taking methotrexate for a long time, with the CTAA genotype for the *MTHFR* gene, increases in liver enzymes are noted. At the same time, the therapeutic effect exceeds negative subjective feelings of patients.

It is known that the main side effects of methotrexate



Table. Examples of clinical and genetic characteristics of patients before and after treatment with methotrexate, depending on genotype in C667T and A1298C of MTHFR gene and curative effect

Diagnosis, sex, age, of patient	Genotype		ALT		AST		α-amylase		Billirubin		Curative effects
	677	1298	(0.1 – 0.68 mmol/lh)		(0,1 - 0,45 mmol/lh)		(norm 12-32 g/lh)		(norm 8.60-25.50 μmol/L)		
Psoriasis vulgaris Patient A, F, 19	CT	AA	0.37	0.45	0.18	0.22	18.25	20.28	17.28	18.21	+
Psoriasis vulgaris Patient B, M, 52	CT	AC	0.38	0.66	0.31	0.30	14.58	28.32	15.06	15.06	—
Psoriasis vulgaris Patient C, M, 40	CC	AC	0.54	0.68	0.40	0.29	45.49	28.31	15.20	17.4	+
Psoriasis arthritis Patient D, F, 40 years	CC	AA	0.44	0.68	0.40	0.39	21.74	21.13	15.30	17.75	+
Psoriasis arthritis Patient E, M, 50	CT	AC	0.48	0.52	0.19	0.36	26.22	29.06	15.54	16.28	+
Psoriasis arthritis Patient F, M, 44	CT	AA	0.81	0.52	0.65	0.60	35.84	14.38	17.69	18.56	+
Psoriasis erythrodermic, arthritis Patient G, M, 37	CC	AA	0.58	0.60	0.40	0.45	34.42	38.16	16.25	14.34	+
Atopic dermatitis Patient H, M, 44	CC	AC	0.58	0.51	0.39	0.28	34.16	22.84	15.3	16.01	+
Scleroderma Patient I, F, 57	CT	AC	0.50	0.54	0.33	0.36	29.12	33.82	17.69	16.73	+
Eczema Patient J, M, 19	CC	AC	0.46	0.42	0.40	0.17	27.95	16.93	17.21	16.49	+
Eczema Patient K, F, 54	CC	AA	0.27	0.49	0.22	0.25	15.42	30.08	17.21	19.12	++
Flat lichen Patient L, F, 53	CC	AC	0.36	0.47	0.30	0.24	28.20	17.96	16.01	16.49	+
Ectopic pregnancy Patient M, F, 25	CC	AA	0.42	0.46	0.33	0.33			10,0	10,0	+

notes: F – female, M – male

are irreversible liver cirrhosis, bone marrow suppression, and mucosal damage. In addition, acute side effects such as elevation of liver enzymes are frequently reported during treatment with methotrexate [27]. The indicator of a healthy liver condition is the results of laboratory tests. In our study, abnormalities in ALT/AST were found in several patients.

The analysis of transaminases dynamics during the treatment allows to make the following conclusion: the enzyme activity before the therapy in studied patients were comparable between different genotypes; after the methotrexate treatment in patients with C677C genotype in MTHFR gene the increased activity of ALT ( $p=0.08$ ), and the decreased activity of AST ( $p=0.136$ ) were observed (Table). Maintenance of transaminases within the baseline may indicate a protective effect of CC genotype and gives a reason to suppose that its using is expedient in patients with CC genotype of C677T in MTHFR gene. It was detected that patients with A1298C genotype in comparison with A1298A genotype ( $p>0.05$ ) had showed

the lowest level of ALT before treatment (Table). After methotrexate treatment in A1298A genotype patients the dynamics of ALT activity in comparison with A1298C patients was observed ( $p=0.059$ ) (Table). At the same time, the increasing in ALT activity of AA homozygotes was noted within the baseline level, while for AC heterozygotes these values exceeded normal values before and after taking methotrexate. It should be noted that the levels of AST in the A1298A patients had comparable before and after treatment, while for the A1298C patients a slight decrease ( $p=0.37$ ) of AST levels after treatment was observed. This could be explained by the variable response to methotrexate in patients with different genotypes.

In the presented study, alpha-amylase levels in patients with CC and CT genotypes of C677T MTHFR gene before MTX treatment were normal or lower than normal. In the presented study, alpha-amylase levels in patients with CC and CT genotypes of C677T in MTHFR gene were normal or lower than normal before MTX treatment. It was noted that the level of amylase was the lowest in

A1298A genotype patients in comparison with A1298C patients before treatment ( $p>0.05$ ). We found out that in patients with CCAA haplotype of MTHFR gene the level of amylase after MTX treatment was increased ( $p=0.32$ ), but within the baseline level. This fact may indicate a good response of carriers of this haplotype to MTX treatment. Our results showed that the CCAA genotype, is seem, prognostically most favorable in the appointment of methotrexate. According to Lilya M. Berkani at al. [20], no association was found between C677T polymorphism and MTX efficiency, while A allele of the A1298C polymorphism was associated with good and moderate response. Probably, patients with the CCAA genotype are the fast metabolizers and could take methotrexate and other medications without complications for a long time.

A detailed description of the cases of therapy with methotrexate patients seems to us relevant and useful for further experience in prescribing the drug.

*Dermatology case.* Patient N., 40 years old, resident of the Kharkov region. Diagnosis - common psoriasis vulgaris, exudative form, arthropathy. Concomitant pathology: hypothalamic-pituitary dysfunction: obesity of the 2nd degree, hirsutism, arterial hypertension, functional disorders of the menstrual cycle, metabolic cardiomyopathy, heart failure of 1st degree, diffuse non-toxic goiter of the 1st degree, encephalopathy, retinal angiopathy.

At the examination the clinical analysis of the blood: Hb-135, erythrocytes -  $4,42 \times 10^{12}$ , color index - 0,92, platelets -  $241 \times 10^9$ , leukocytes -  $7,1 \times 10^9$ , ESR - 20 mm/hour, neutrophils stab - 2%, segmented - 44%, eosinophils - 3%, monocytes - 9%, lymphocytes - 42%, clinical analysis of urine: specific gravity - 1.016, pH - 6.0, color - yellow, cloudy, leukocytes - 0-1 in field of view, mucus - a large number, salt - a lot crystals of urate. Biochemical blood test: total protein - 84.5 g/L, total bilirubin - 15.3  $\mu\text{mol/L}$ , ALT - 0.44 mmol/lh, AST - 0.40 mmol/lh, creatinine - 76  $\mu\text{mol/L}$ , alpha-amylase - 21.74 g/lh, urea - 4.97 mmol/L, C- reactive protein - positive.

Complex therapy included: methotrexate according to the protocol, glutargin; parenterally: nicotinic acid, magnesium sulfate, vitamin C; ingestion: vitamin A, antihistamines, analgesics; external therapy and physiotherapy.

The period of remission, partial regression of cutaneous manifestations of dermatosis and improvement of joint function are noted. There were no side effects after using of methotrexate with additional therapy. The dynamics of laboratory indicators was the normal and did not give the opportunity to note visceropathy.

It is known that the feasibility of low-dose use and success of methotrexate makes it the first drug in the medical treatment of ectopic pregnancies. Besides its advantages, it should be used with caution and severe toxicity should be kept in mind [28].

*Gynecology case.* The patient E., 25 years old, resident of the Kharkov region, was admitted to the gynecology department with suspected ectopic pregnancy is progressing (menstruation was 11 days delayed). With transvagi-

nal ultrasound: uterine size 49x54x36 mm, median m-echo 16 mm fertilized egg in the uterus is not visualized. Left ovary 34x29 mm small follicular structure. The left fallopian tube is not visualized. Right ovary - 49x26 mm turning diameter of 30 mm, non-uniform ehostructure. In the field of education is determined by the right-wing appendages rounded form with content ehonativ diameter 29 mm, free fluid in the abdominal cavity do not. Conclusion: progressive tubal pregnancy. So, in this case we have decided use single dose of MTX.

According to current protocols [23], determined the beta subunit of hCG in the blood serum, which amounted to 1531 mU/mm. Results of clinical examination: hemoglobin 126 g/l, erythrocytes  $3,5 \times 10^{12}$ ,  $10,8 \times 10^9$  leucocytes, erythrocyte sedimentation rate 16 mm/h, ALT 0.42 mmol/lh, AST 0.33 mmol/lh. For the purpose of conservative treatment of ectopic pregnancy intramuscularly administered 100 mg of methotrexate. On the third day after the administration of methotrexate beta - hCG was 830 IU/ml. The patient appeared moderate bleeding from the genital tract, which stopped their own after 7 days. Seven days after MTX injection liver and renal function and full blood count are checked. On the 8th day from the beginning of the treatment of beta-hCG 190 IU, ALT 0.46 mmol/lh, AST 0.33 mmol/lh, hemoglobin 109 g/l, erythrocytes  $3,4 \times 10^{12}$ ,  $10,6 \times 10^9$  leukocytes, ESR 8 mm/hour. Ultrasound examination: the uterus in anteflexio 48x52x35 mm, median m-echo 3 mm, linear, left ovary 33x29 mm, right 43x24 mm small follicular structure. Fallopian tubes are not visualized. Conclusion: I phase of the menstrual cycle. The patient was discharged on the 10th day after starting treatment with weekly control recommendation beta hCG as long as the rate is not lower than 10 IU/ml.

Methotrexate could be used as a treatment of tubal ectopic pregnancy with hCG<5000 UI/L and expectative is an option if hCG level is lower than 1500 UI/L [19]. Women had allocated to MTX are administered a single MTX injection, 1 mg/kg body weight. A single dose regimen was introduced to minimize side effects, to improve patients' compliance and to reduce overall costs. MTX has been shown to be safe with virtually no adverse effects reported on reproductive outcome [31]. An important for women who have been treated with MTX are advised not to get pregnant within three months after treatment [22].

At the same time, according to Kutuk M.S. and co-authors (2017), MTHFR 677C/T and 1298A/C mutations do not predict the outcome of single dose intramuscular MTX treatment in unruptured tubal EP [17].

To date, our results had shown the potential role of MTHFR polymorphisms in relation to the toxicity of MTX. The decreasing in the therapeutic effects in different genotypes is in the following relationship: CCAA <CTAA <CTAC. As a result of our studies, it had demonstrated that patients with wild type alleles of MTHFR gene are well respond to treatment by methotrexate. The main idea of future research is the search for ways to increase the effectiveness of therapy in patients, taking into account

the pathophysiological processes and the genotypes of one-carbon metabolism genes for successful treatment. Awareness of the specialists and the patient about his genotype features and the personified therapy development creates the basis of human genetic safety [6].

## REFERENCES

1. Бадюкин В.В., Корсакова Ю.Л. Метотрексат вопросы безопасности // Фарматека : международный медицинский журнал. 2004; 12: 73-79.
2. Гончар С.Н., Корсакова Ю.Л. Динамика кальциевого обмена на фоне лечения цитостатиками в зависимости от дозы метотрексата и сочетания с глюкокортикостероидами // Вестник последипломного медицинского образования. 2003;3-4: 66-67.
3. Жученко С.И., Майоров М.В., Черняк О.Л. Внематочная беременность: современные методы диагностики и лечения // Газета «Новости медицины и фармации». 2013; № 15 (466). – Electronic resource : <http://www.mif-ua.com/archive/issue-34195>
4. Наказ МОЗ України No 676 від 31.12.2004 (зі змінами -накази МОЗ України No 782 від 29.12.2005, No624 від 03.11.2008, No 205 від 24.03.2014) «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги»: Позаматкова вагітність – Electronic resource : <http://www.moz.gov.ua>
5. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Псоріаз, включаючи псориатичні артропатії. – Київ: Вид-во «КІМ», 2016. – 68 с
6. Федота А.М., Козлов А.Н. Исследование уровня генетической безопасности городского населения // Цитология и генетика. 2005; 39 (4): 41-44.
7. Федота А.М., Рыжко П.П., Рощенюк Л.В., Воронцов В.М., Солодянкин А.С. Солодянкина Е.А. Полиморфизм C677T гена MTHFR у больных псоріазом // Вісник Харківського національного університету ім.В.Н.Каразіна. Серія:Біологія. 2010; 12 (920): 37-41.
8. Carlos Abud-Mendoza, Marco U. Martínez-Martínez, Adriana Monsivais-Urenda, Roberto Gonzalez- Amaro. Laboratory Biomarkers for Guiding Therapy with Methotrexate in Rheumatoid Arthritis // Current Pharmaceutical Design. 2015; Vol.21: 202-211.
9. Castro,R., Rivera, I., Ravasco, P., Jakobs, C., Blom, H.J., Camilo, M.E., de Almeida, I.T., 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T and 1298A→C mutations are genetic determinants of elevated homocysteine // Q. J. Med. 2003; 96: 297–303.
10. Chang TC and Mendell JT. microRNAs in vertebrate physiology and human disease // Ann Rev Genomics Hum Genet 2007; 8: 215-239.
11. Demirdag E, Guler I, Abay S, Oguz Y, Erdem M, Erdem A. The impact of expectant management, systemic methotrexate and surgery on subsequent pregnancy outcomes in tubal ectopic pregnancy // Ir J Med Sci. 2017; 186(2):387-392.
12. Feng Y, Zou S, Weijdegård B, Chen J, Cong Q, Fernandez-Rodriguez J, Wang L, Billig H, Shao R. The onset of human ectopic pregnancy demonstrates a differential expression of miRNAs and their cognate targets in the Fallopian tube // Int J Clin Exp Pathol. 2014; 7(1):P.64-79.
13. Fernández-Peralta A.M., Daimiel L., Nejda N. et al. Association of polymorphisms MTHFR C677T and A1298C with risk of colorectal cancer, genetic and epigenetic characteristic of tumors, and response to chemotherapy // Int. J. Colorectal Dis. 2010;25 (2):P. 141–151.
14. Gervasini G.Polymorphisms in methotrexate pathways: what is clinically relevant, what is not, and what is promising // Curr Drug Metab. 2009; 10(6): 547-66.
15. Giancarlo Garuti, Stefania Calabrese, Lorenzo Quirino, Marco Di Mario. Hysteroscopically-guided subchorionic methotrexate administration: A new technique for termination of cesarean scar pregnancy // J Case Rep Images Gynecol Obstet 2016; 2: 1–6.
16. Goujon C, Bérard F, Dahel K, Guillot I, Hennino A, Nosbaum A, Saad N, Nicolas JF. Methotrexate for the treatment of adult atopic dermatitis // Eur J Dermatol. 2006; 16(2): 155-158.
17. Kutuk MS, Subasioglu A, Uludag S, Tascioglu N, Ozgun MT, Dundar M The effect of parental 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase 677C/T and 1298A/C gene polymorphisms on response to single-dose methotrexate in tubal ectopic pregnancy // J Matern Fetal Neonatal Med. 2017; 30(10):1232-1237.
18. Lermann J, Segl P, Jud SM [et al.] Low-dose methotrexate treatment in ectopic pregnancy: a retrospective analysis of 164 ectopic pregnancies treated between 2000 and 2008 // Arch Gynecol Obstet. 2014 ;289(2):329-35.
19. Lesavre M, Curinier S, Capmas P, Rabischong B, Fernandez H. Treatment of tubal ectopic pregnancy by methotrexate/ [Article in French] // J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2015;44(3):212-9.
20. Lilya M. Berkani, Fadia Rahal, Ines Allam, Soraya Mouaki Benani, Aïcha Laadjouz, and Reda Djidjik Association of MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms with methotrexate efficiency and toxicity in Algerian rheumatoid arthritis patients // Heliyon. 2017; 3(11): e00467.
21. Menter A, Korman NJ, Elmets CA, et al. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis: section 4. Guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with traditional systemic agents // J Am Acad Dermatol. 2009;61:451–85.
22. Norah M van Mello, Femke Mol, Albert H Adriaanse, Erik A Boss, et al.. The METEX study: Methotrexate versus expectant management in women with ectopic pregnancy: A randomised controlled trial // BMC Womens Health. 2008; 8: 10
23. Order №646 of Ukraine Ministry of Health of Ukraine, 2004
24. O’Rielly D.D., Rahman P. Pharmacogenetics of psoriasis // Pharmacogenomics. 2011; 12(1): 87-101.
25. Pasqualina Castaldo, Simona Magi, Annamaria Assunta Nasti, Sara Arcangeli, Vincenzo Lariccia, Nicola Alesi, Massimo Tocchini and Salvatore Amoroso Clinical Pharmacogenetics of Methotrexate // Current Drug Metabolism 2011; 12: 278 - 286
26. Qiu Q, Huang J, Lin Y, Shu X, Fan H, Tu Z, Zhou Y, Xiao C. Polymorphisms and pharmacogenomics for the toxicity of methotrexate monotherapy in patients with rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis // Medicine (Baltimore). 2017;96(11):e6337.
27. Radmanesh M, Rafiei B, Moosavi ZB, Sina N. Weekly vs. daily administration of oral methotrexate (MTX) for generalized

plaque psoriasis: a randomized controlled clinical trial // Int J Dermatol 2011;50:1291-1293.

28. Soysal S, Anik İlhan G, Vural M, Yıldızhan B. Severe methotrexate toxicity after treatment for ectopic pregnancy: A case report // Turk J Obstet Gynecol. 2016;13(4):221-223.

29. Toffoli G., Russo A., Innocenti F. et al. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism on toxicity and homocysteine plasma level after chronic methotrexate treatment of ovarian cancer patients // Int. J. Cancer. 2003; 103 (3):P. 294-299.

30. Wang L, Feng Y, Zou S, Brannstrom M, He L, Billig H and Shao R. Linking DNA methylation to the onset of human tubal ectopic pregnancy // Am J Transl Res 2013; 5: 116-125

31. Woolas R.P, Bower M, Newlands E.S, Seckl M, Short D, Holden L. Influence of chemotherapy for gestational trophoblastic disease on subsequent pregnancy outcome // Br J Obstet Gynaecol. 1998, 105: 1032-10355.

32. Zoller L, Ramon M, Bergman R. Low dose methotrexate therapy is effective in late-onset atopic dermatitis and idiopathic eczema // Isr Med Assoc J. 2008; 10(6): 413-414.

## SUMMARY

### PHARMACOGENETIC EFFECTS OF METHOTREXATE (MTX) IN UKRAINIAN PATIENTS DEPENDING ON THE MTHFR GENOTYPES (CLINICAL CASES)

<sup>1</sup>Fedota O., <sup>2</sup>Roschenyuk L., <sup>1</sup>Tyzhnenko T.,  
<sup>3</sup>Merenkova I., <sup>2</sup>Vorontsov V.

<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkiv National University; <sup>2</sup>Kharkiv regional clinical skin and venereal diseases dispensary №1; <sup>3</sup>The municipal institution of health protection «Kharkov City Maternity Hospital №1», Ukraine

The aim of the study is an evaluation the influence of MTHFR gene polymorphisms in the response to MTX in Ukrainian patients.

The study group included unrelated Ukrainian patients with dermatoses - psoriasis vulgaris, psoriasis arthritis, psoriasis erythrodermic, atopic dermatitis, scleroderma, eczema, flat lichen and ectopic pregnancy. The materials for this study are based on the accumulated data from clinical observations of different reactions of patients with dermatoses and ectopic pregnancies when using methotrexate as the basic therapy according protocols.

The analysis of the results obtained in the retrospective study indicated that MTX-treated patients had shown a different parameters depending on genotypes or haplotypes of MTHFR gene. After the treatment in the group of patients, carriers of CC genotype on C677T polymorphism of MTHFR gene, who received methotrexate, the normal levels of transaminases were observed. Probably, patients with the CCAA genotype are the fast metabolizers and could take methotrexate and other medications without complications for a long time. In the presented study, alpha-amylase levels in patients with CC and CT

genotypes of C677T MTHFR gene before MTX treatment were normal or lower than normal. We found out that the level of amylase was significantly, almost 2 times, increased after treatment with MTX in patients with CCAA haplotype of MTHFR gene. Thus, the study of the association of polymorphisms of the MTHFR gene with a response to MTX has shown that the decrease in the therapeutic effect and the appearance of side effects in different genotypes is in the following relationship: CCAA <CTAA <CTAC. The main idea of future research is the search for ways to increase the effectiveness of therapy in patients, taking into account the pathophysiological processes and the genotypes of one-carbon metabolism genes for successful treatment.

**Keywords:** dermatoses, ectopic pregnancy, folate cycle, MTHFR gene, methotrexate.

## РЕЗЮМЕ

### ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ МЕТОТРЕКСАТА У БОЛЬНЫХ УКРАИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПОВ ГЕНА MTHFR (КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ)

<sup>1</sup>Федота А.М., <sup>2</sup>Рощенюк Л.В., <sup>1</sup>Тыжненко Т.В.,  
<sup>3</sup>Меренкова И.Н., <sup>2</sup>Воронцов В.М.

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина; <sup>2</sup>Харьковский областной клинический кожно-венерологический диспансер № 1; <sup>3</sup>«Харьковский городской родильный дом №1» Украина

Цель исследования – оценка реакции украинских пациентов на приём метотрексата в зависимости от генотипа по гену MTHFR. Изучались неродственные украинские пациенты с дерматозами - псориаз обыкновенный, псориатический артрит, эритродермия, атопический дерматит, склеродермия, экзема, плоский лишай и внематочная беременность. Проанализированы накопленные данные клинических наблюдений об ответе пациентов с дерматозами и трубной беременностью на метотрексат в качестве базовой терапии в соответствии с протоколами. Больные, получавшие метотрексат, имели различные результаты лабораторных исследований и терапевтический эффект в зависимости от генотипов или гаплотипов по гену MTHFR. После лечения в группе пациентов с генотипом CC по полиморфизму C677T гена MTHFR показатели активности трансаминаз были в пределах нормы. Авторы статьи предполагают, что больные с генотипом CCAA являются быстрыми метаболизерами и могут принимать метотрексат и другие лекарства без осложнений в течение длительного времени. Уровни альфа-амилазы у пациентов с генотипами CC и CT по полиморфизму C677T гена MTHFR до лечения метотрексатом были в пределах или ниже нормы.



После приема метотрексата у пациентов с гаплотипом ССAA по гену *MTHFR* уровень амилазы увеличился почти в 2 раза. Таким образом, исследование ассоциации полиморфизмов гена *MTHFR* с ответом на метотрексат показало, что снижение терапевтического эффекта и изменение метаболических процессов у больных с разными генотипами происходит в следующем соотношении: ССAA <СТAA <СТАС. Основной идеей будущих исследований является поиск путей повышения эффективности терапии у пациентов с учетом патофизиологических процессов и генотипов по генам одноуглеродного метаболизма.

### რეზიუმე

მეტოტრექსატის ფარმაკოკინეტიკური ეფექტები უკრაინული პოპულაციის პაციენტებში *MTHFR*-ის გენის გენოტიპების მიხედვით (კლინიკური შემთხვევები)

<sup>1</sup>ა. ფედოტა, <sup>2</sup>ლ. როშენიუკი, <sup>1</sup>გ. ტიუნეკო,  
<sup>3</sup>ბი. მერენკოვა, <sup>2</sup>ვ. ვორონცოვი

<sup>1</sup>ხარკოვის ბ. კაზარინის სახ. ეროვნული უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ხარკოვის №1 საოლქო კლინიკური დერმატო-ვენეროლოგიური დისპანსერი; <sup>3</sup>ხარკოვის №1 საქალაქო სამშობიარო სახლი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მეტოტრექსატის მიღებაზე უკრაინელი პაციენტების რეაქციის შეფასება *MTHFR*-ის გენის გენოტიპის მიხედვით. შესწავლილია ნათესაური კავშირების არმქონე უკრაინელი პაციენტები დერმატოზებით (ჩვეულებრივი ფსორიაზი, ფსორიაზული ართრიტი, ერთროდერმია, ატოპიური დერმატიტი, სკლეროდერმია, ეგზემა, ბრტყელი ლიქენი და საშვილოსნოსგარე ორსულობა).

გაანალიზებული კლინიკური დაკვირვებების მონაცემები დერმატოზების და საშვილოსნოსგარე ორსულობის მქონე პაციენტების მკურნალობაზე მეტოტრექსატით ბაზისურ თერაპიაზე, პროტოკოლის შესაბამისად. რეტროსპექტიული კვლევით მიღებული შედეგების ანალიზმა აჩვენა, რომ მეტოტრექსატით ნამკურნალებ პაციენტებთან ლაბორატორიული კვლევების შედეგები და თერაპიული ეფექტი განსხვავებულია *MTHFR*-ის გენის გენოტიპის, ან პაპლოტიპის მიხედვით. *MTHFR* გენის C677T პოლიმორფიზმის CC გენოტიპის მქონე პაციენტების ჯგუფში მკურნალობის შემდეგ ტრანსამინაზების აქტივობის მაჩვენებლები იყო ნორმის ფარგლებში. შესაძლოა, ССAA გენოტიპის მქონე პაციენტები, წარმოადგენენ რა სწრაფ მეტაბოლიზერებს, შეუძლიათ მეტოტრექსატის და სხვა წამლების მიღება ხანგრძლივი დროის განმავლობაში, გართულებების გარეშე. *MTHFR* გენის C677T პოლიმორფიზმის CC და CT გენოტიპების მქონე პაციენტებთან მეტოტრექსატით მკურნალობის დაწყებამდე აღფა-ამილაზას დონე ნორმის ფარგლებში, ან ნორმაზე დაბალი იყო. მეტოტრექსატის მიღების შემდეგ *MTHFR* გენის C677T პაპლოტიპის მქონე პაციენტებში ამილაზას დონე გაიზარდა თითქმის ორჯერ. ამრიგად, *MTHFR* გენის პოლიმორფიზმის კვლევამ მეტოტრექსატით მკურნალობაზე პასუხთან დამოკიდებულებით აჩვენა, რომ სხვადასხვა გენოტიპის მქონე პაციენტებთან თერაპიული ეფექტის დაქვეითება და მეტაბოლური პროცესების ცვლილება ვითარდება შემდეგი თანაფარდობით: ССAA<СТAA<СТАС. მომავალი კვლევების ძირითად არსს წარმოადგენს პაციენტების მკურნალობის ეფექტურობის გაზრდის გზების ძიება პათოფიზიოლოგიური პროცესების და ერთნახშირბადიანი მეტაბოლიზმის გენების გენოტიპების გათვალისწინებით.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННЕЙ СТРУКТУРЫ ОРГАНОВ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Пилипко И.В., Галицкая-Хархалис А.Я., Геник Т.Р., Флекей Н.В., Панчишин Н.Я.

Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет им. И. Я. Горбачевского Министерства здравоохранения Украины», Тернополь, Украина

Причиной портальной гипертензии (ПГ), как известно, в 75-85% является цирроз печени (ЦП) [7]. Цирроз - это последняя стадия любого хронического заболевания печени. Частота хронических заболеваний печени постоянно растет как в Украине, так и во всем мире. За последние 5 лет заболеваемость циррозом печени в Украине выросла на 44,8%, рас-

пространенность в мире за это время увеличилась на 15,8% [13]. Развитие ПГ является неблагоприятным прогностическим признаком для больных циррозом, средняя продолжительность жизни которых составляет около 19 месяцев [8,13]. В США ЦП занимает пятое место среди причин смерти лиц в возрасте до 60 лет. Течение ПГ чаще имеет тотальный характер с

вовлечением в круг патологических нарушений всего сосудистого русла и, в первую очередь, той его части, которая относится к бассейну воротной вены. Поэтому основные нарушения гемодинамики и морфофункциональные изменения в микроциркуляторном русле происходят во всех органах брюшной полости [1].

Множеством исследователей установлено, что прогрессирование ПГ при ЦП сопровождается значительными нарушениями системной гемодинамики и развитием ряда тяжелых осложнений - энтеропатии, гепаторенального и гепатопульмонального синдромов, энцефалопатии, которые возникают более чем у 90% больных ЦП и способствуют развитию функциональной недостаточности практически всех органов, нередко являясь причиной летального исхода [6,7].

В развитии и течении ПГ значимая роль отводится изучению состояния почек [12]. Совокупность нарушений их функционального состояния при патологии печени известна как гепаторенальный синдром (ГРС) [10]. В случаях, когда у больных ЦП диагностируется ПГ, у 20% из них ГРС может развиваться в течение первого года, у 40% - спустя 5 лет [9].

Что касается влияния гемодинамической перестройки кровеносного русла на морфофункциональное состояние семенников, то эта проблема имеет выраженную социальную и демографическую направленность, т.к. за последние годы растет число бесплодных браков, при этом, 30-60% из них обусловлены расстройствами мужской фертильности. Нередко причиной снижения сперматогенной и эндокринной функций семенников являются острые и хронические расстройства кровообращения в нем [3]. Проблема мужского бесплодия сохраняет актуальность, что обусловлено высокой чувствительностью созревающих половых клеток к воздействию различных эндо- и экзогенных факторов. Особенно чувствительны структуры семенных канальцев к циркуляторной гипоксии, которая как раз и имеет место в условиях портальной гипертензии.

К регуляции движения крови, в частности по артериям, в первую очередь, имеет отношение тонус гладкой мускулатуры их стенок и различные «замыкательные» структуры, сокращение и расслабление которых сказывается на пропускной способности сосудов [4]. Поэтому установление характера перестройки и особенностей ремоделирования сосудов в условиях нарушения гемоциркуляции является одной из приоритетных задач современной морфологии [2].

**Материал и методы.** Исследование проведено на 36 белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г, 6 из них составили контрольную группу, остальным 30 крысам под кетаминным обезболиванием моделировали портальную гипертензию путем сужения воротной вены на 50%, несколько ниже ее бифуркации по предложенному способу [5]. Из эксперимента животных выводили внутривенным введением больших доз концентрированного тиопентала натрия.

Животные содержались в виварии Тернопольский

государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МОЗ Украины. Манипуляции и уход за животными проводили в соответствии с положением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и с другой научной целью», (Страсбург, 1986), и в соответствии с положениями «Общих этических принципов экспериментов на животных», принятых Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Забор морфологического материала осуществлялся на 1, 3, 7, 14, 28 сутки эксперимента. Образцы с обеих почек и семенников фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина или 96° спирте. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону.

**Результаты и их обсуждение.** В условиях экспериментальной ПГ выявлены морфологические проявления достаточно ощутимых изменений внутриорганных почечного кровотока, причем степень этих проявлений коррелировала с продолжительностью эксперимента. Так, на 1 сутки моделирования ПГ морфофункциональные изменения в сосудистом русле почек проявлялись умеренным полнокровием всех порядковых ветвей интраорганных артерий и незначительным спазмом артериол. Заслуживает внимания, что артерии большого калибра иногда были несколько растянутыми и наполненными эритроцитами, в сосудах среднего и малого калибра, помимо наличия в просвете эритроцитов, других существенных изменений не наблюдалось. Вместе с тем, эндотелиальная выстилка артериол выглядела отечной, в результате чего увеличенные в размерах ядра эндотелиоцитов выступали в просвет сосудов в виде «частокола», что указывает на повышение тонуса гладкомышечной оболочки (рис. 1). Венозное русло почек при этом также было умеренно полнокровным, с одновременным незначительным стазом в капиллярах. В корковом веществе выявлены полнокровные звездчатые вены. Просвет капсулы Боумена нередко был несколько сужен, структура других компонентов нефрона оставалась без существенных изменений.

Согласно морфологической перестройки сосудов семенников выявляются характерные однотипные изменения в структуре ткани почек, которые свидетельствуют об усилении артериального притока по яичковым артериям с одновременным снижением пропускной способности и усилением сосудистого сопротивления их конечных ветвей, что, по всей вероятности, является защитной реакцией, направленной на предупреждение гидродинамической перегрузки гомоциркуляторного русла. Просвет семенных канальцев заполнен несколькими слоями слущенных клеток сперматогенного эпителия. Собственная же оболочка семенных канальцев и структура других составляющих семенника оставались без существенных изменений.

На 3 сутки эксперимента в обоих органах артерии крупного и среднего калибра были в прежнем состоя-

нии. В то же время сохранялось и даже несколько усиливалось сужение просвета артериол, что в дальнейшем может явиться причиной ишемии тканей (рис. 2). Продолжает сохраняться, как и в предыдущий срок наблюдения, умеренное венозное полнокровие с расширением просвета и истончением венозных стенок, которые вместе с капилляростазом, очевидно, являются подтверждением замедленного кровотока.

Спустя неделю экспериментальных исследований морфологическая картина структуры почек и яичек продолжала изменяться. Венозное полнокровие усиливалось и в дальнейшем с характерным увеличением зон капилляростазов. Под капсулой почки появлялись заметно расширенные и гиперемизированные звездчатые вены, вокруг которых наблюдалась выраженная лимфогистоцитарная инфильтрация.

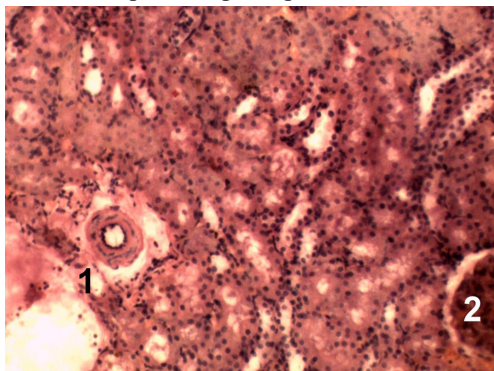


Рис. 1. Гистологический срез ткани почки крысы спустя 1 сутки после моделирования ПП. 1 - артериола с утолщенной стенкой и набухшим эндотелием, 2 - почечный клубочек с умеренно суженным просветом капсулы. Окраска гематоксилином и эозином. X240

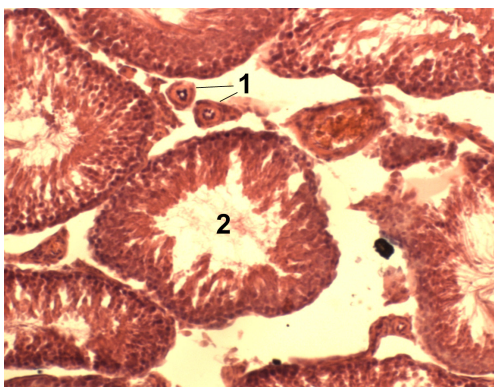


Рис. 2. Гистологический срез ткани семенника крысы спустя 3 суток после моделирования ПП. 1 - артерии малого калибра с утолщенными стенками и суженным просветом, 2 - семенной каналец. Окраска гематоксилином и эозином. X280

В этом периоде эксперимента достаточно часто является колапс клубочков с расширением просвета капсул Боумена, что, по всей вероятности, является следствием спазма приносящих артериол. Кроме того, в почечных канальцах наблюдались увеличенные в

размерах и деформированные нефроны с точечными вкраплениями в цитоплазме, что указывает на дистрофические изменения в них. Отек стенки сосудов на данном этапе наблюдения сменялся их гипертрофией (рис. 3). В семенных канальцах в этот срок наблюдения часть клеток имела признаки гиперхромности цитоплазмы, происходило отшелушивание клеток в просвет канальцев, возникал отек их собственной оболочки, что также указывает на развитие дистрофических изменений.

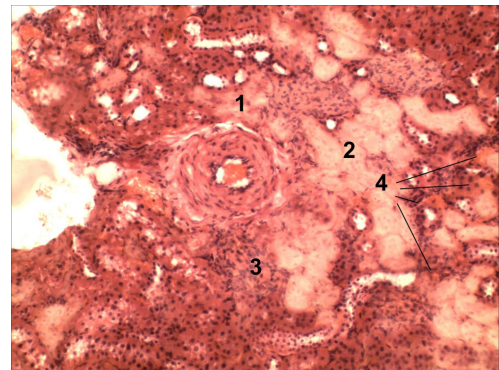


Рис. 3. Гистологический срез ткани почки крысы спустя 7 суток после моделирования ПП. 1 - утолщение стенки t. media почечной артерии за счет гипертрофии, 2 - дистрофия эпителия канальцев почечной паренхимы, 3 - полиморфноядерная инфильтрация, 4 - капилляростазы. Окраска гематоксилином и эозином, X160

На 14 сутки наибольшей морфологической перестройке сосудистых стенок, как и в предыдущие сроки наблюдения, подверглись, в первую очередь, артериолы обоих органов. Ведущей причиной утолщения их мышечной оболочки была гипертрофия гладкомышечных клеток, в частности увеличение размеров ядер с усилением эозинофилии (рис. 4), значительное расширение вен с выраженным полнокровием и капилляростазом одновременно с выраженной лимфогистоцитарной инфильтрацией в периваскулярной области. В семенных канальцах сохранялись также и дистрофические изменения, на что указывают признаки белковой дистрофии в цитоплазме эпителиоцитов. t. Progria семенных канальцев неравномерно утолщена, расщеплена и проникает в щели между клетками на разную глубину. В некоторых клетках сперматогенного эпителия отмечали дегенерацию цитоплазмы, нарушение целостности клеточной мембраны, а также собственной оболочки канальцев.

На 28 сутки эксперимента все выявленные ранее изменения продолжали прогрессировать, а именно - венозное полнокровие в почках с выраженной периваскулярной полиморфноядерной инфильтрацией сохранялось на уровне предыдущего наблюдения (рис. 5): в семенниках заметно снижалось полнокровие вен, однако здесь же имело место развитие соединительной ткани в виде очагов периваскулярного и интерстициального фиброза. Дистрофические изменения



стромы и клеточных элементов в нефроне и семенных канальцах усиливались. Определялась значительная лимфогистоцитарная инфильтрация, особенно в локусах дезорганизации паренхимы, что нередко предопределяет фибропластическую реакцию, сочетается с гиалинозом коллабированных почечных клубочков, атрофией мочевых канальцев, а также опустошением и дегенерацией семенных канальцев (рис. 6).

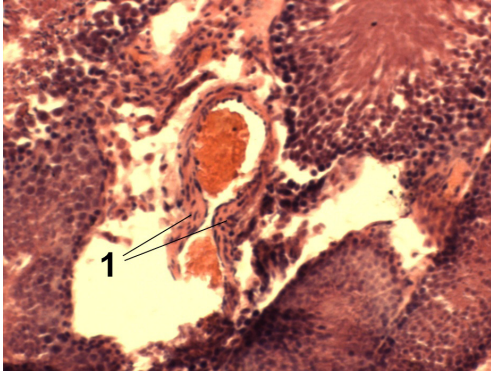


Рис. 4. Гистологический срез ткани семенника крысы спустя 14 дней после моделирования ПГ. Повышение тонуса мышечно-эластичного сфинктера в устье бокового ответвления внутриорганный ветви яичковой артерии - 1. Окраска гематоксилином и эозином. X240

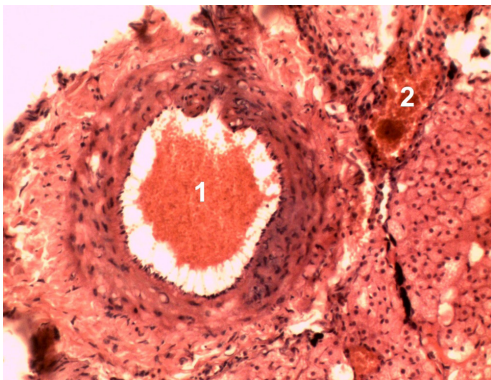


Рис. 5. Гистологический срез ткани почки крысы спустя 28 суток после моделирования ПГ. 1 - полнокровие в почечной артерии, 2 - полнокровие вены. Окраска гематоксилином и эозином. X160

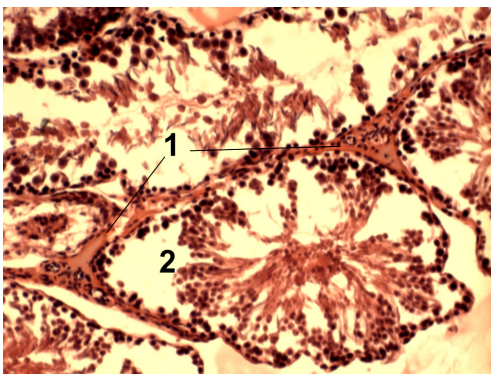


Рис. 6. Гистологический срез ткани яичка крысы спустя 28 суток после моделирования ПГ. 1 - фиброз

с появлением соединительнотканых прослоек между семенными канальцами, 2 - дистрофия и слущивание сперматогенного эпителия, опустошение просвета канальцев. Окраска гематоксилином и эозином. X240

Результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод, что при ПГ почки и семенники поражаются от расстройств как центральной, так и внутриорганный гемодинамики, однако повреждения сосудов и паренхимы органов в разные периоды эксперимента неоднородны. Так, нарушение органного кровообращения на фоне ПГ вначале приводит к вазодилатации крупных сосудов и одновременно к сужению мелких артерий с последующим переходом к постепенно выраженной вазоконстрикции с 7 дня эксперимента в почках, а с 14 дня - в семенниках.

Отек стенки сосудов в этот период сменяется гипертрофией мышечной оболочки. Сужение почечных сосудов особенно усиливается на 14 и 28 сутки эксперимента. Позднее в яичке с 28 дня эксперимента прослеживается расширение артерии среднего размера в семенниках, а мелких - уже на 14 сутки наблюдения. Двухволновая динамика сосудистых изменений, очевидно, обусловлена тем, что первый пик усиления притока крови к гонадам, с одновременным снижением интенсивности оттока от него, в условиях ПГ вызывает адаптивное снижение пропускной способности мелких сосудов в виде проявления вено-артериальной компенсаторной реакции с одновременным увеличением емкости сосудов большого калибра, что предупреждает гемодинамическую перегрузку микроциркуляторного русла. Во второй половине эксперимента (с 14 дня) положение несколько выравнивается за счет развития порто-кавальных анастомозов и частичной стабилизации центральной гемодинамики. Однако полной компенсации не происходит, о чем свидетельствует сохранение гипертонуса в артериях t. albuginea. Наряду с этим происходит гипоксическая вазодилатация артериол и артерий малого калибра. В течение всех сроков исследования структурная перестройка артерий сопровождалась венозным полнокровием и ростом капилляров с периваскулярным отеком, что постепенно нарастало, достигая пика в конце эксперимента.

Начиная с 14 суток в паренхиме почек, в частности в элементах капсулы Боумена и в эпителии почечных канальцев возникают дистрофические изменения, которые сопровождаются лейкогистоцитарной инфильтрацией, постепенно переходящей в фибропластическую перестройку и склероз интерстиция. Наиболее выраженные склеротические изменения отмечаются на 28 сутки эксперимента. Подобная картина наблюдалась и в семенных канальцах в виде разрастания соединительной ткани вместе с атрофией и опустошением. Описанные различия в динамике морфологических изменений почек и яичек могут быть обусловлены различными механизмами их возникновения. Для яичек это может быть



влияние чисто гемодинамического фактора с начальным нарастанием гидродинамической нагрузки и их ответной реакции с усилением сосудистого сопротивления с последующим компенсаторным развитием коллатерального кровообращения и соответствующим ремоделированием сосудов. Что касается почки, то на фоне общих гемодинамических изменений могут развиваться проявления печечно-почечной недостаточности с последующим углублением расстройств органного почечного кровотока.

Вышеизложенное совпадает с современными представлениями о влиянии гемодинамических изменений на перестройку структурных элементов органов и тканей. Как известно, в регуляции движения крови, в частности по артериям имеет влияние, в первую очередь, их тонус [1], а также различные замыкающие структуры, сокращение и расслабление которых сказывается на пропускной способности сосудов [4]. Поэтому установление характера перестройки и особенностей ремоделирования сосудов в условиях нарушения гемоциркуляции является одной из приоритетных задач современной морфологии [11].

**Выводы.** 1. Портальная гипертензия вызывает изменения центральной гемодинамики, приводя к структурно-функциональной перестройке сосудов почек и мужских половых органов в виде выраженной вазоконстрикции и венодилатации, направленных на сохранение оптимального кровообращения на уровне обменного звена сосудистого русла.

2. Длительные расстройства органной почечной гемодинамики при портальной гипертензии с усилением сосудистого сопротивления и снижением перфузии приводят к ишемии тканей с последующим развитием в них дистрофических и склеротических процессов.

3. В отдаленные строки эксперимента возможно частичное восстановление кровообращения в мужских половых железах, однако сохранение гипертонуса сосудов белковой оболочки способствует хронизации гипоксии и может проявить свое негативное значение.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гарбузенко Д.В. Морфофункциональная перестройка печеночного сосудистого русла в патогенезе портальной гипертензии при циррозе печени / Д.В. Гарбузенко // Тер. арх. – 2014. – Т. 86 (2). – С. 90–95.
2. Гансбургский А.Н. Структурно-функциональный анализ артерий церебрального бассейна в разные периоды гипертензии / А.Н. Гансбургский, А.В. Яльцев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины - 2012. – № 3. - С. 375-377.
3. Герасимюк І.С. Морфологічні особливості змін у паренхімі яєчка щурів при дозованому стенозі сім'яного канатика / І. С. Герасимюк, Т. Я. Стравський, М. В. Юшак // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т. 1, № 2. – С.32–40.
4. Новиков Ю.В. Морфологические изменения сосудистого русла и других тканевых компонентов почек при стенозе легочного ствола и после его устранения (экспериментальное исследование) / Ю.В. Новиков, С.В. Шорманов, И.С. Шорманов // Морфология. – 2014. – № 6. – С. 91-96.

5. Пат. 58427 Україна, МПК 2011,01 Пристрій для дозованого звуження судин / Н.І. Герасимюк, І.В. Пилипко, Л.О. Островська; заявник і власник патенту Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського. – № u 201011700; заявл. 01.10.10; опубл. 11.04.11, Бюл. № 7.
6. Присяжнюк В. П. Особливості використання кверцетину в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки різних вікових груп / В. П. Присяжнюк, О. І. Волошин // Вісник наукових досліджень. – 2015. – № 1. – С. 23-25.
7. Самогальська О.Є. Клініко-гемодинамічні аспекти алкогольного цирозу печінки / О.Є. Самогальська, Н.В. Лобанець, А.М. Сидорівський, Л. Л. Куліковський // Сучасна гастроентерологія – 2015. – № 2 (82). – С. 37–41.
8. Annet L, Materne R, Danse E. Hepatic flow parameters measured with MR imaging and Doppler US: correlations with degree of cirrhosis and portal hypertension // Radiology. – 2013. – Vol. 229(2). – P.409-914.
9. Bardi A, Sapunar J, Oksenberg D. Intrarenal arterial Doppler ultrasonography in cirrhotic patients with ascites, with and without hepatorenal syndrome // Revista Medica de Chile. – 2012. – Vol. 130(2). – P.173-180.
10. Berzigotti A, Casadei A, Magalotti D. Renovascular impedance correlates with portal pressure in patients with liver cirrhosis // Radiology. – 2015. – Vol. 240(2). – P.581-586.
11. Danukalo M.V. Features of nitric oxide synthase isoforms expression in rat locus coeruleus neurons in experimental hypertension of various origins / M.V. Danukalo, O.V. Gancheva, O.V. Melnikova, Yu. Vorodeeva // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2017. – Т. 17, Вип. 4 (60). – С. 33-36.
12. Hiremath SB, Srinivas LD. Survival benefits of terlipressin and non-responder state in hepatorenal syndrome a meta-analysis // Indian J Pharmacol. – 2013. – Vol. 45(1). – P.54-60.
13. Slyvka N.O. Можливості ранньої діагностики гепаторенального синдрому у хворих на алкогольний цироз печінки / N. O. Slyvka, N. G. Virstiuk, I. A. Plesh, L. D. Boreiko, V. A. Haidukov, G. I. Kshanovska // Буковинський медичний вісник. – 2017. – Т. 21, №1 (81). – С.149-153.

## SUMMARY

### MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE UROGENITAL SYSTEM INTERNAL STRUCTURE AT MODELING OF PORTAL HYPERTENSION IN RATS

**Pylypko I., Halytska-Kharkhalis O., Henyk T., Flekey N., Panchyshyn N.**

*State Higher Educational Institution "I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ministry of Health of", Ternopol, Ukraine*

Portal hypertension is a constant companion of numerous diseases in gastroenterology, vascular surgery, cardiology, and hematology with grave consequences for the health and life of patients. The development of portal hypertension leads to significant violations of hemodynamics in the liver vessels and the development of arterial and venous hypertrophy, stasis of blood in the vessels of the portal tract.

In the experiment on rats, portal hypertension was simulated in an original way with the following study of the peculiarities of morphological changes in the internal structure of the kidneys and gonads in males as a manifestation of a violation of systemic hemodynamics.

The decrease of the renal artery throughput in portal hypertension, dystrophic changes in the epithelium against the background of venous congestion, paravazal polymorphocytic infiltration and proliferation of the connective tissue have been identified.

**Keywords:** portal hypertension, kidney, testicle, seminal tubules, spasm, stenosis.

## РЕЗЮМЕ

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННЕЙ СТРУКТУРЫ ОРГАНОВ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Пилипко И.В., Галицкая-Хархалис А.Я.,  
Геник Т.Р., Флекей Н.В., Панчишин Н.Я.

*Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет им. И. Я. Горбачевского Министерства здравоохранения Украины», Тернополь, Украина*

Портальная гипертензия - неизменный спутник многочисленных заболеваний в гастроэнтерологии, сосудистой хирургии, кардиологии, гематологии с тяжелыми последствиями для здоровья и жизни больных. Развитие портальной гипертензии приводит к значительному нарушению гемодинамики в сосудах печени и развитию артериального и венозного полнокровия, стаза крови в сосудах портального тракта.

В эксперименте на крысах проведено моделирование портальной гипертензии по оригинальному способу с последующим изучением особенностей морфологических изменений внутренней структуры почек и половых желез у самцов как проявления нарушения системной гемодинамики.

Выявлены снижение пропускной способности почечных артерий при портальной гипертензии, дистрофические изменения в эпителии на фоне венозного застоя, паравазальной полиморфноклеточной инфильтрации и пролиферации соединительной ткани.

## რეზიუმე

შარდ-სასქესო სისტემის ორგანოების მორფოლოგიური ცვლილებები პორტული ჰიპერტენზიის მოდელირების დროს ვირთავებში

ი.პილიპკო, ა. გალიცკაია-ხარხალისი, ტ. გენიკი,  
ნ. ფლექეი, ნ. პანჩიშინი

ტერნოპოლის ი. გორბაჩევსკის სახელობის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ტერნოპოლი, უკრაინა

პორტული ჰიპერტენზია მრავალი დაავადების თანამგზავრია გასტროენტეროლოგიაში, სისხლძარღვთა ქირურგიაში, კარდიოლოგიასა და ჰემატოლოგიაში, მძიმე შედეგებით ავადმყოფთა სიცოცხლისა და ჯანმრთელობისათვის. პორტული ჰიპერტენზიის განვითარება იწვევს ჰემოდინამიკის მნიშვნელოვან დარღვევას ღვიძლის სისხლძარღვებში და არტერიული და ვენური სისხლსაკვების განვითარებას, სისხლის სტაზს პორტული ტრაქტის სისხლძარღვებში.

ვირთავებზე ექსპერიმენტულად ჩატარებულია პორტული ჰიპერტენზიის მოდელირება ორიგინალური მეთოდით, თირკმლის და მამრი ვირთავების სასქესო ჯირკვლების შინაგანი სტრუქტურის ცვლილებების თავისებურებების - როგორც სისტემური ჰემოდინამიკის დარღვევის გამოვლენების - შემდგომი კვლევით.

გამოვლენილია თირკმლის არტერიების გატარების დაქვეითება პორტული ჰიპერტენზიის დროს, ასევე, ეპითელიუმის დისტროფიული ცვლილებები ვენური შეგუბების, პარავაზალური პოლიმორფულჯრედოვანი ინფილტრაციის და შემაერთებელი ქსოვილის პროლიფერაციის ფონზე.

## FROM THE PERSISTENT EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION TO ANGIOIMMUNOBlastic T-CELL LYMPHOMA - DRAMATIC CONVERGENCE. ANALYSIS OF THE CLINICAL CASE

<sup>1</sup>Mostovoy Y., <sup>1</sup>Demchuk A., <sup>1</sup>Konstantynovych T., <sup>2</sup>Chichirelo-Konstantynovych K., <sup>3</sup>Demchuk A.

*National Pirogov Memorial Medical University, <sup>1</sup>Propedeutic Department of Internal Medicine; <sup>2</sup>Department of Infection Diseases, Vinnytsya; <sup>3</sup>Podilskiy Regional Oncological Center, Cytological Laboratory, Ukraine*

Lymphoproliferative diseases are among the most dangerous and tragic pathological conditions due to the severity of their timely diagnosis, non-specificity of clinical

signs, heterogeneity of the morphological picture, and the lack of reliable, highly effective treatments.

According to the National Cancer Register of Ukraine

in 2016, the incidence of Hodgkin's lymphoma was 2.3 cases per 100,000 population, while non-Hodgkin's lymphoma doubled 5.6 cases per 100,000 population. The Hodgkin's lymphoma mortality rate was at the level of 0.7 per 100,000 population, in the case of non-Hodgkin's lymphoma it increased to 2.9 cases per 100,000 population. It should be noted that after the diagnosis of Hodgkin's lymphoma, 9.9% of patients die during the first year, while in the non-Hodgkin's lymphoma - 30.8% of patients [4].

*Infection of the Epstein-Barr virus: epidemiology, oncogenesis, diagnosis*

The problem of lymphoproliferative diseases associated with the Epstein-Barr virus (EBV) is one of the most difficult in modern medicine. Its relevance increases with each passing year.

Infection of EBV causes activation of the immune response. It is characterized with hyperplasia of B-cells of lymphoid tissue and manifested with lymphadenopathy of regional lymph nodes, regressed during 18 months, catarrhal, common signs of a viral infection, hepatosplenomegaly, and arthralgia.

Oncogenic properties of EBV were first described by J. Komano et al. in 1998 as an experiment in the formation of a malignant phenotype of Burkitt's lymphoma cells in repeated infections of EBV in vitro [12].

In case of longtime persistent infection, viral oncogenesis depends on the properties of the viral agent, the type of target cells and the state of the immune system at the time of the replication [24].

EBV infection, unlike other oncogenic infections, is associated with a multitude of carcinogenic diseases, which does not always allow suspecting it as a cause, but not a consequence of the pathological process. Thus, frequent recurrences of EBV are associated with the onset of Lymphoma Burkitt, some T-cell lymphomas, B-cell tumors connected with congenital or acquired immunodeficiency, with undifferentiated cancers of nose, stomach, lungs, salivary glands and breast [1]. Consequently, EBV is considered a multitropic virus due to the propensity to affect B- and T-lymphocytes, epithelium, and smooth muscle.

The prevalence of acute EBV infection is quite high - 80-90% of cases of acute infectious mononucleosis in the world are due to EBV-etiology [13]. The incidence of EBV in the world is 50-100 cases per 100,000 population, mostly among young people aged 15-19 years [8]. Seropositive signs of previous EBV infection are observed in >90% of people over the age of 40 years [22].

Bright clinical manifestation of EBV infection due to adequate immunological reactivity is observed in young patients, and falls under the control of physicians. In middle age and elderly patients, it is characterized by a sluggish non-specific course, the addition of comorbid infectious pathology due to age-related immunosuppression and concomitant diseases. Therefore, patients of the older age group with latent course of EBV are not diagnosed on time, receive treatment in accordance with concomitant pathological conditions (acute respiratory infections, pneumonia, allergic diseases).

They have increase risk of oncopathology due to reactivation of persistence. In such cases, the oncologic process is not always interpreted as an outcome of viral oncogenesis.

The oncogenic effect of EBV consists in the immortalization of B-lymphocytes in vitro [17]. The transformation of B-lymphocytes in the lymphoblasts has been experimentally proved *in vivo* [32]. The latent stage of EBV infection is represented in extrachromosomal distribution of virions, although part of the viral pool is capable of penetration into the target cell genome. There are three types of latencies for EBS. The first type is detected in Burkitt's lymphoma cells, supported by the expression of the EBNA-1 nuclear antigen responsible for EBV replication, and EBER, which inhibits the apoptosis of infected target cells. The second type characterizes most other tumors (Hodgkin's disease, nasopharyngeal carcinoma, stomach cancer). In addition to EBNA-1, it contains membrane structures LMP-1, LMP-2. The third type is found in lymphoblastoid cells and B-lymphomas in conditions of severe immunodeficiency and is the most complicated in the structure for the elements of avoiding the immunological attack of the body, since the additional EBNA-2 transactivates the transcription of other viral and cellular genes [11]. EBV gene expression is targeted at B-type cell lymphogenesis and is implemented by activating 6 oncological proteins[6].

Viral latency provokes oncogenesis in combination with genetically determined predisposition, factors of the environment and disorder of immunological homeostasis [26]. The VNRFL1 protein inhibits apoptosis triggered by tumor necrotic factor-alpha. It helps to avoid the immunologic attack from the immune system. The presence of EBV in the clonal-episomal form in malignant neoplasms indicates its penetration into cancer cells before carcinogenic manifestations. In addition, the primary lesion is often mistakenly considered as benign lymphoproliferative process. It does not contribute to timely medical correction [19].

Diagnostic panel of patients with neoplasms of possible EBV-etiology is quite controversial. The screening method is to determine the EBV-viral load to identify potential carriers. The extraction of EBV DNA from tumor cells, high viral load of EBV in the patient's blood, the correlation of specific antibodies, viral DNA in plasma, and the severity of the patient's condition is probably evidence. The indicated criteria are valid only for patients with acute course of EBV infection, or for those who are in a terminal condition. The hybridization method in situ for detecting EBER in tissue samples of tumors is acceptable for early correct diagnosis of the latent course of EBV created passive immunosuppression [9].

*Characteristics of EBV-induced lymphoproliferative diseases*

The following EBV-induced lymphomas are described:

Burkitt's Lymphoma is extremely progressive, low-differentiated B-cell non-Hodgkin's lymphoma, manifested mainly by extranodal lesion. There are three clinical vari-



ants of it: endemic, sporadic and associated with immunodeficiency. Endemic type affects the lower jaw and bones, most commonly found among children of equatorial Africa and Asia. Swerdlow et al, proving the connection between endemic Burkitt's Lymphoma and malaria in endemic regions, showed that infection with *Pl. falciparum* can result in reactivation of latent infected B-lymphocytes of memory. It is found in almost all cases of endemic lymphoma [5, 28]. Sporadic type of Burkitt's Lymphoma is found everywhere and presented with lesions of the abdomen in children and young adults. EBV is revealed only in 15-20% of cases [16, 18]. In case of Burkitt's Lymphoma with immunodeficiency, EBV is detected in 30-40% of patients. Burkitt's Lymphoma is characterized by the first type of latency with the expression of EBNA-1 and EBER without the expression of latent membrane proteins, for example, LMP-1. Evidence of the oncogenic role of EBV is based on the fact that cell lines without EBV does not cause tumors in mice, but reinfection EBV restores the malignant phenotype. In all clinical variants of Burkitt's Lymphoma, regardless of whether EBV is detected, there is a translocation of the c-MYC oncogene on the 8th chromosome. The main role of EBV in the endemic Burkitt's Lymphoma is protecting against apoptosis of B-lymphocytes that have already translocation c-MYC, increasing telomere dysfunction and genomic instability [14].

Diffuse B-large-cell lymphoma (B-LCL) is initiated by EBV on the background of age-related changes in the immune response. According to Oyama, et al (2003), in patients with LMP-1 EBV is found in most cases, EBNA-2 - only in 25-35% of cases [21]. The tumor has a high index of proliferation, and tumor cells are positive for pan-B-lymphocytic markers (CD20 may be lost) and variably positive for CD30. The morphological and immunohistochemical picture of the B-LCL is similar to HIV-induced lymphoproliferative disease. Clinical course of the disease is aggressive with a less favorable prognosis compared with EBV-negative B-LCL. The tumor associated with chronic inflammation (the second type of EBV-positive B-LCL), often affects the body cavity. It is aggressive lymphoma with less favorable outcome compared with EBV-negative B-LCL. Often, lymphoma is primarily manifested as a huge tumor of the thoracic cavity, which allows to differentiate it from the primary exudate lymphoma. More than 60% of patients have a third type of latency EBV. Recent studies have shown that EBV positive B-LCLs are increasingly found in younger patients. They have a wide range of morphological manifestations and better survival than previously thought [20].

Hodgkin's lymphoma is registered in young people (from adolescence till early mature age) and persons over 70 years old. The prevalence of Hodgkin's lymphoma is higher among HIV-infected and transplanted patients. The risk of Hodgkin's lymphoma among those who have had infectious mononucleosis is four times the risk of EBV-negative individuals and patients with high titers to EBV antigens have a high risk of lymphoma throughout life.

Malignant Hodgkin's lymphomas and the Rod-Sternberg cells are EBV-positive in 40% of cases and show a second type of latency. Most often, EBV causes classical Hodgkin's lymphoma, usually a mixed cell subtype, clinically manifested as fever, night sweats, weight loss, lymphadenopathy with lesions of the cervical, mediastinal and axillary lymph nodes and extranodal lesions (for example, hepatosplenomegaly). Infection of EBV in patients with Hodgkin's lymphoma worsens the prognosis. It is shown that the virus detected in 75% of mixed-cell forms and more than 95% of the lymphocyte-deficient forms of Hodgkin's lymphoma, usually with disseminated lesions in elderly patients and HIV-infected [10,27,29,30].

4) NK / T-cell lymphomas are also associated with EBV infection. Among them, peripheral T-cell lymphomas, angioimmunoblast T-cell lymphoma, extranodal NK / T-cell lymphoma of the nasal type, T-cell lymphoma of the enteropathic type, hepatosplenic and non-hepatosplenic T-cell lymphoma, EBV-associated skin T-cell lymphoma and aggressive NK -cell leukemia / lymphoma. Angioimmunoblast T-cell lymphoma was previously called angioimmunoblast lymphadenopathy with dysproteinemia and was considered a pathological reaction of the immune system at the form of rash, fever, autoimmune hemolytic anemia, polyclonal hyperhmaglobulinemia, and an increase in all lymph node groups [15, 23]. Histological examination reveals infiltration of the lymph node by immunoblast and plasma cells with loss of its structure, often with pathological vascularization. Immunohistochemical and molecular genetic studies show that in many such patients, T-cell lymphoma is present from the onset, characterized with acute course, generalized lymph nodes enlargement, hepatosplenomegaly, rash, and general symptoms [7]. In the blood, polyclonal hyperhmaglobulinemia, positive Coumbs test, and plasma cells are determined. Patients are usually adults, spontaneous remission may occur. The tumor progresses rapidly and ends with death [25, 31].

Angioimmunoblast T-cell lymphoma: symptomatology, course according to results of own experience

We observed the case of angioimmunoblast lymphoma in the terminal stage, which developed after long time remission of the disease during more than one and half year.

Day 1. April 14, 2017 at 05:20. Patient D., 29 years old, was delivered by the "ambulance" to the pulmonologic department with complaints of low-productive insignificant cough, increase in body temperature to 38.5 °C, weakness, sweating, shortness of breath at insignificant physical activity, slight enlargement of abdomen.

He was ill on 27.03.2017 when, without apparent cause, there was discomfort in the abdomen, dry cough, body temperature increased to 37.1-37.5 °C. The patient came for help to a family doctor on 05.04.2017, when improvement of the state after observing the diet and taking pancreasm did not take place. The conducted physical and laboratory-instrumental examination revealed signs of community-acquired pneumonia of the lower lobes of

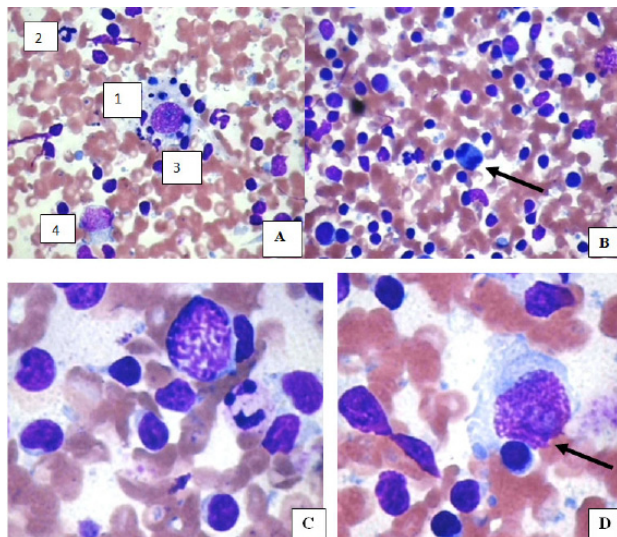


both lungs, right side exudative pleurisy, hepatolienal syndrome, ascites, diffuse lymphadenopathy with lesions of the submandibular, cervical, axillary, inguinal mediastinal and abdominal lymph nodes. The patient was examined by the infectious diseases physician who excluded the presence of viral hepatitis B and C. On the evening of April 13, 2017, the patient's temperature increased to 39.3 °C, and heaviness in the upper abdomen increased. He called Ambulance and admitted to City Clinical Hospital. The duty surgeon examined him and eliminated the presence of acute surgical pathology. The patient was hospitalized to the pulmonary department.

**History of life.** In May 2014, after acute respiratory viral infection increased submandibular and cervical lymph nodes, persistent subfebrile (37.2 -37.5 °C) was maintained despite repeated courses of antibiotic therapy. The patient was investigated and serological tests showed increase in titers of IgM and IgG to EBV and cytomegalovirus. However, according to the infectionist opinion, the dynamics of the clinical presentation of the disease did not correspond to the antibody titers to these viruses. The patient was recommended for further examination in the oncology clinic.

From August 8, 2014 the patient was observed by doctors of the Vinnytsia Regional Clinical Oncology Center. The comprehensive examination included aspiration and open biopsy of the lymph node of the neck.

During the cytological examination, the hyperplasia of the lymphoid tissues of the plasmocyte type with high mitotic activity, the presence of a significant number of small lymphocytes, neutrophils, macrophages, single cells with signs of Hodgkin cells was determined (Fig. 1).



**Fig. 1.** Fine needle cytology smear of the right cervical lymph node of the patient D.: polymorphism of the cellular composition: A. Macrophage (1), neutrophil (2), small lymphocytes (3), lymphoblast (4) (Romanovsky –Himse stain 400×); B. Hyperplasia of elements of lymphoid tissue, mitosis of plasmacyte (Romanovsky –Himse stain 400×); C. Small lymphocytes, lymphoblast (Romanovsky –Himse stain 1000×); D. Immunoblast with signs of the Hodgkin's cell. (Romanovsky –Himse stain 1000×)

Histologic examination of biopsy revealed acute non-specific lymphadenitis, reactive follicular hyperplasia.

According to the ultrasound investigation of the abdominal cavity, chest X-ray, pathological changes were not detected. However, eosinophilia (6%) and insignificant hyperproteinemia (81.0-82.1 g/l) were observed in the blood.

In the dynamics, the patient's condition did not improve: general weakness, fatigue, arthralgia, myalgia, subfebrile, lymphadenopathy persisted. In November 2014, the condition deteriorated - abdominal discomfort, sore throat, sensation of nasal congestion arose, and numerous lymph nodes on the neck were increased to 2-3 cm on both sides. During the laboratory tests, leukocytosis (12.1-12.9×10<sup>9</sup>/l) of eosinophilia (13-30%) and hyperproteinemia (91.9-100 g/l) were determined in the blood. The ultrasound investigation of the abdominal cavity revealed hepato- and splenomegaly, increase in the lymph nodes at the gates of the spleen, the liver and the retroperitoneum. Computer tomographic examination of the chest organs revealed lymphadenopathy of the mediastinum.

During the treatment in the oncological clinic, the patient's throat pain and difficulty of nasal breathing was increased. During endoscopic examination hyperplasia of the lymphoid tissue of the nasopharynx, an ulcer of the tongue root was detected. The morphological characteristic of samples from the nasopharynx was represented with hyperplastic lymphoid tissue and eosinophilic infiltration. The samples of the tongue root had elements of flat epithelium with degenerative changes, isolated lymphoblasts, lymphocytes.

Repeated biopsy of the right cervical lymph node of the neck was made. Histologically the lympho-proliferative process was detected.

For immunohistochemical examination, the samples of lymph node were sent into few laboratories. According to results of one laboratory the signs of Hodgkin's lymphoma were not detected, the histological structure of the lymph node and the character of the marker expression were consistent with immunoblast lymphadenitis.

The immunohistochemistry results of the other laboratory revealed a morphological pattern of ungraded B-lymphoma with indications of an intermediate between diffuse B-large cell lymphoma and classical Hodgkin's lymphoma.

According to the conclusion of the National Cancer Institute of the Ministry of Health of Ukraine, in the histological materials of the patient there was a classic Hodgkin's lymphoma, a variant of nodular sclerosis.

Morphological examination of lymph node samples in Hematological Scientific Center of the Ministry of Health of Russia did not detect data of Hodgkin's lymphoma, B-cell large-cell lymphoma. The morphological pattern corresponded to reactive changes in the lymph node with the phenomena of extra follicular B cell activation, non-tumor angioimmunoblast lymphadenopathy. To exclude the initial signs of angioimmunoblast T-cell lymphoma, a polymerase chain reaction was performed on sections of paraffin blocks to check the clonality of retention of IgVH, TCR

genes. This test revealed pathological monoclonal genes of the gamma chain of the T-cell receptor, which confirmed the presence of the initial signs of non-Hodgkin's T cell angioimmunoblast lymphoma [2] (Fig. 2).

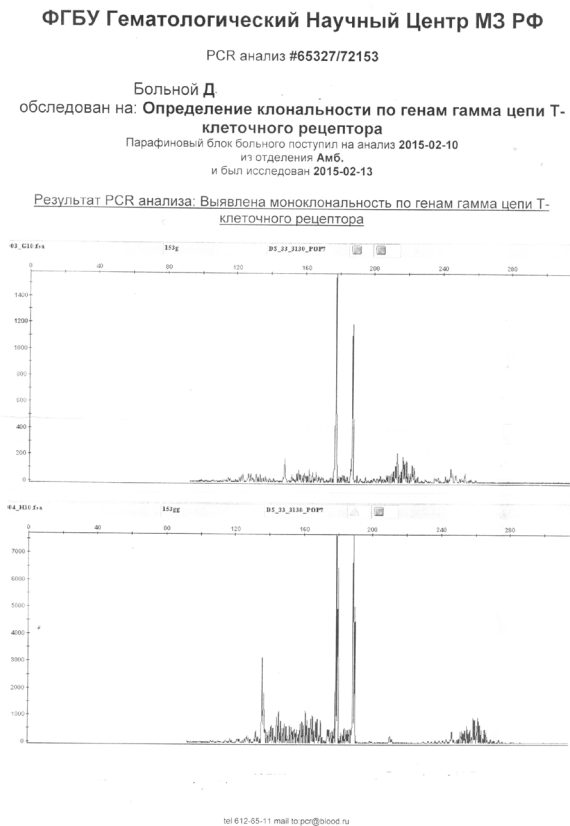


Fig. 2. The result of the polymerase chain reaction of sections from paraffin blocks for the presence of the clonality of retriggering the TCR genes of the patient D. The monoclonalities of the gamma chain of the T cell receptor, which is confirmation of angioimmunoblast T-cell lymphoma, have been revealed

Based on this data, on February 15, 2015, a diagnosis was made at the National Cancer Institute: non-Hodgkin's T cell angioimmunoblast lymphoma, stage IIIB with lesion of cervical, supraclavicular, subcutaneous, inguinal, mediastinal and abdominal lymph nodes, soft tissue of the lymph-pharyngeal ring, II clinical group. In February 2015, the first course of polychemotherapy (vincristine, doxorubicin, cyclophosphamide, etoposide, and prednisolone) was conducted to the patient.

After therapy, the patient's condition worsened. Weakness, fatigability, body temperature, pain in the throat, arthralgia were increased. There was rash on the skin. Therefore, he refused from the further chemotherapeutic treatment. At the end of March 2015, the patient was examined by infectionist and reactivation of the herpesvirus (EBV, cytomegalovirus) infection according to the PCR data was established. Patient started treatment with antiviral drugs.

In April 2015, the morphologists of the Charite clinic (Germany) consulted histological specimens of the patient's

lymph nodes. There was no convincing evidence of the presence of Hodgkin's classical lymphoma and malignant non-Hodgkin's lymphoma. Hyalino-vascular variant of angiofollicular hyperplasia of the lymph node (Kastleman's disease) was established. However, the patient was persistently warned that the results of the morphological study were not sufficient to establish an accurate diagnosis. He needs a comprehensive clinical and laboratory examination and supervision of the oncologist, since the detected changes in the lymph nodes can be transformed into a malignant process.

The patient refused to be managed in the oncologic clinic. He continued treated under the supervision of infectionist, who established chronic staphylococcal infection with persistence in the nasopharynx, chronic rhinosinusitis, tonsillitis, local cervical lymphadenopathy, syndrome of chronic bacterial intoxication with fever, recurrent toxicoderma, arthralgia due to the use of systemic corticosteroids.

The patient received staphylococcal anatoxin, pyobacteriophage, staphylococcal bacteriophage, IRS-19, lysobact, imudon, kanifron. The patient's condition improved. Lymph nodes decreased, body temperature was normalized, arthralgia, sore throat and nasal congestion disappeared.

For more than aone and half year the patient's condition was stable. There were no acute infectious diseases, peripheral lymph nodes did not increase, the pains and signs of a fever did not observe. In December 2016 he was ill with an acute respiratory infection of the upper respiratory tract, which lasted about 10 days and ended with recovery.

**Objective examination.** The condition of the patient was moderate severe. There was a slight pallor of the skin, papular rash on the body in the form of single elements with a diameter of 4-5 mm. The enlarged submandibular, cervical, supraclavicular, axillary and inguinal lymph nodes from 1.5 to 4 cm in size, varying in density, painless and not conjugate to surrounding tissues were determined.

Chest was symmetrical. Respiratory rate was 28 per minute. Percussion sound above the upper parts of lungs was clear; above the lower parts of both sides, it was small dull and it was completely dull on the right subscapular region. Auscultatory: In the upper parts of the lungs, rough vesicular breathing was heard; in the lower on both sides, weakened vesicular breathing with the fine sonorous moist rales was presented. A phenomenon of "dumb lungs" was heard in the projection of the completely dull percussion sound on the right subscapular region.

Pulse was 78 bpm, rhythmic, satisfying properties. Blood pressure was- 120/70 mm Hg. Heart sounds were rhythmic; SI was weakened on the apex.

The tongue was clean. During palpation abdomen was soft, swollen, sensitive in the epigastric region and right hypochondrium. The liver was enlarged and protruded 7 cm from the costal arc, dense, sensitive; its edge was sharp, uneven. The spleen was enlarged 2 cm below the costal arc on the left, dense, sensitive. Peripheral edema was not determined. SaO<sub>2</sub> was 96%.

**Preliminary diagnosis.** Community-acquired pneumonia of the lower lobes of the both lungs, moderate severe,

on the background of the immunodeficiency. Right-sided exudative pleurisy. Respiratory failure 2 degree. Hepatolienal syndrome. Ascites Generalized lymphadenopathy.

Suppose of Non-Hodgkin's B-cells lymphoma. Infectious mononucleosis of mixed etiology (EBV and cytomegalovirus), glandular-anginal form, chronic course.

14.04.2017. *Chest X-ray*: Multiple small-focal infiltration of the pulmonary tissue in the lower lobes of both sides. Roots of lungs was non-structural. Free liquid in 7 rib was determined in the right pleural cavity. Infiltrative changes was in the D4,5. Conclusion: radiological signs of lymphoproliferative process or septic embolism.

14.04.2017. *Ultrasound examination of the abdominal cavity and neck*: Significant hepatomegaly, splenomegaly, significant diffuse changes of the liver, right side hydrothorax, ascites, cervical, abdominal, inguinal lymphadenopathy.

Full blood test on the day of hospitalization-14.04.2017 revealed signs of acute systemic inflammatory process with significant shift of the leucocytes formula to the left till myelocytes (Table 1). In dynamic gradual increase of leucopenia with shift of the leucocytes formula to the left, increase amount of lymphocytes and thrombocytopenia was observed.

The patient was prescribed ceftriaxone, levofloxacin, glutargin, limphiazot, ambroxol.

Pleural aspirate was performed with diagnostic purpose.

Day 3. 16.04.2017 at 22:00 the patient felt palpitation, intensifying pain and discomfort in the right hypochondrium, increased the intensity of dyspnea, swelling abdomen. During an objective examination, the icterus of sclera and skin was revealed, rash was increased.

The patient was examined by a regular physician, surgeon, and resuscitative physician. On the basis of the data of the subjective, objective examination, laboratory tests - an increase in bilirubin, transaminases, urea, creatinine, leukocytosis (Table 1, 2), an assumption about the exac-

erbatation of chronic cholecystopancreatitis, renal-hepatic insufficiency was made.

The patient was prescribed aprotinin, metoclopramide, pantoprazole, reosorbilact. For further treatment, the patient was transferred to the intensive care unit.

Day 4. 17.04.2017. The patient's condition got worse. Weakness, dyspnea, cough, abdominal pain, flatulence, jaundice pallor and dryness of the skin were increased. Edema of the lower extremities, hemorrhagic rash on the anterior surface of the body, oliguria up to 300 ml had appeared.

The patient's diagnosis was updated: Community-acquired pneumonia of the lower lobes of the both lungs moderate severe. Respiratory failure. Right hydrothorax. Generalized lymphadenopathy. Acute hepatitis. Hepatolienal syndrome. Ascites. Acute renal failure, the stage of oligoanuria.

Correction of treatment included the administration of corvutin, enterosgel, furosemide, chophitol, oxygen therapy.

Day 5. 18.04. 2017. The patient's condition became grave severe: dyspnea, weakness, abdominal pain increased. The patient could not perform minimal movements in bed.

Objectively: pulse was 100 bpm, weak filling, respiratory rate was 36 bpm, blood pressure was 110/60 mm Hg, body temperature was in a normal range. Percussion and auscultation data of the lungs examination was without dynamics. The heart sounds were weakened. Abdomen was swollen, tense, hepatomegaly and splenomegaly.

Hemorrhagic rash had spread to the limbs, face, mucous membranes. There were hemorrhages in the subconsciousness space. Oliguria.

18.04.2017 According to the cytological study of pleural fluid, the signs of malignant non-Hodgkin's lymphoma, probably immunoblast was revealed. The cytological picture was represented by extensive fields, clusters of neoplastic elements (Fig. 3).

Table 1. Dynamic of full blood test of the patient D

Index	14.04.2017	16.04.2017	17.04.2017	18.04.2017	19.04.2017
hemoglobin, g/l	140	150	150	154	144
Erythrocytes, *10 <sup>12</sup> /l	-	4,55	-	3,9	-
Hematocrit, %	-	55	-	-	-
Platelets, *10 <sup>9</sup> /l	-	-	-	40	-
Leucocytes, *10 <sup>9</sup> /l	4,7	3,0	3,2	3,0	2,8
Myelocytes, %	4	2	2	0	0
Metamyelocytes, %	2	2	1	0	0
Stab cells, %	17	26	20	14	12
Segmental neutrophils, %	36	36	40	41	42
Basophils, %	1	1	0	0	0
Eosinophils, %	0	0	0	0	0
Lymphocytes, %	33	33	32	39	40
Monocytes, %	7	6	5	6	6
ESR, mm/hour	14	14	15	4	2



Table 2. Dynamic of the biochemical test results of the patient D

Index	16.04.2017	18.04.2017	19.04.2017
Urea, mmol/l	19,8	31,6	39,0
Creatinin, mmol/l	0,214	0,34	0,41
Total protein, g/l	-	52,3	-
Total bilirubin, mcmol/l	129,6	240,0	288,0
Direct bilirubin, mcmol/l	84,0	201,6	206,4
Indirect bilirubin, mcmol/l	45,6	38,4	81,6
ALT, mcmol/l/h	0,56	0,81	0,81
AST, mcmol/l/h	0,62	0,87	0,75
Blood glucose, mmol/l	3,8	6,4	-
Protrombin time, sec	-	31	30
Fibrinogen A, g/l	-	2,2	1,9
Fibrinogen B	-	Negative	Negative
Time of plasma recalcification, sec	-	99	100
Fibrinilic activity, hours	-	2 hours 10 min	1 hour 30 min

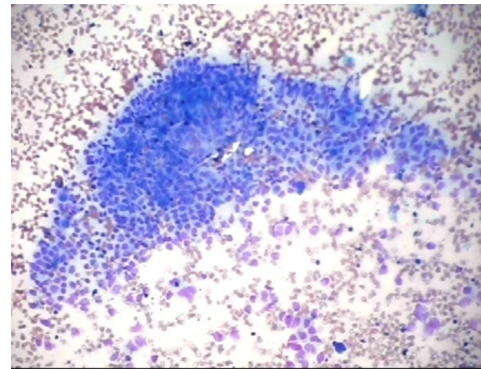
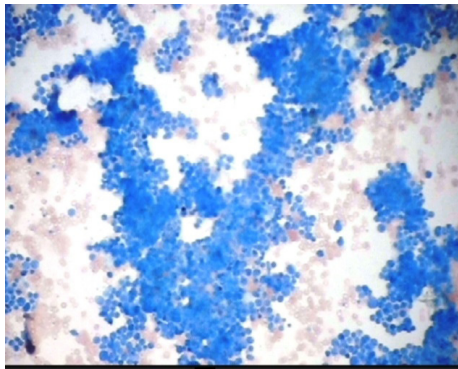


Fig. 3. The pleural fluid smear of the patient D.: A) Fields of malignant cells of lymphatic origin; B) Proliferation of dendritic cells. (Romanovsky –Himse stain 100×)

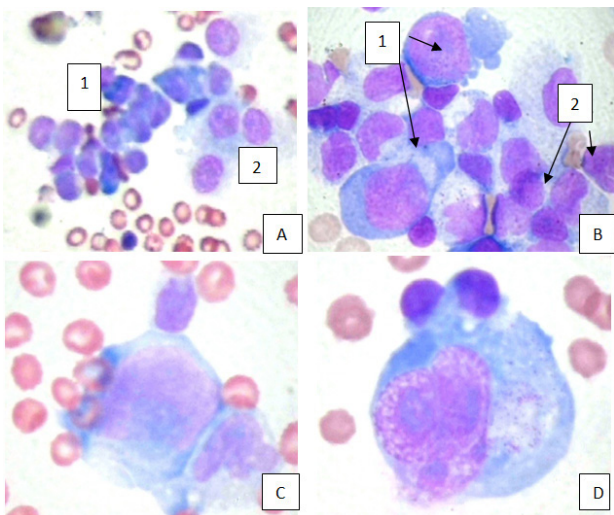


Fig. 4. The pleural fluid smear of the patient D: A) Cluster of small lymphocytes (1) and dendritic cells (2), (Romanovsky –Himse stain 400×); B) medium-sized lymphocytes (1), immunoblast (2); C) cells that morphology resembles Hodgkin's cells; D) cells, which morphology resembles Berezovsky-Stenberg cells. (Romanovsky –Himse stain 1000×)

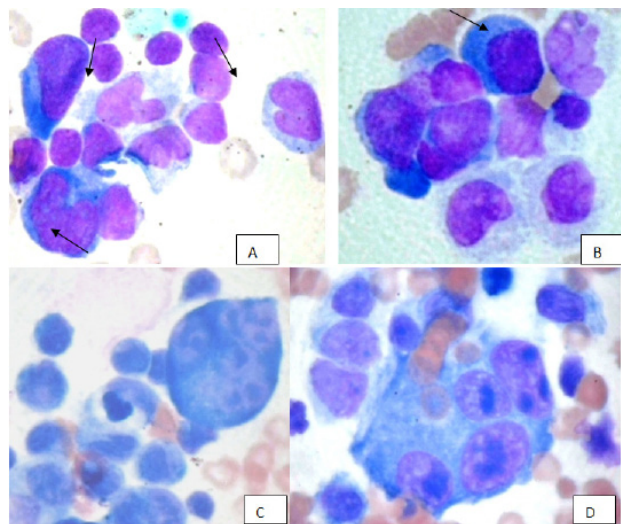


Fig. 5. . The pleural fluid smear of the patient D: Lymphoid cells with folded and lobular nuclei (A), blast with basophilic cytoplasm (B); autophagosome (C), hematophagosome (D). (Romanovsky –Himse stain 1000×)



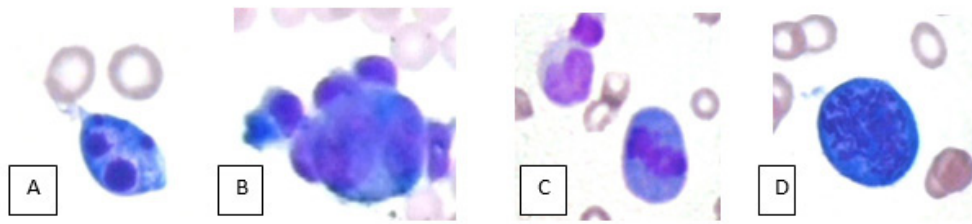


Fig. 6. The pleural fluid smear of the patient D.: Apoptosis (A), amitose (B), pathological mitosis (C, D). (Romanovsky-Himse stain 1000×)

Infiltration with polymorphic cell population, which included small and medium sized lymphocytes with light cytoplasm, immunoblast, giant cells similar to Hodgkin cells, Berezovsky-Stemberg cells, lymphocytes with folded and lobed (“flower petals”, “clover leaves”) are distorted, enlarged nuclei that are inherent to T-cells and blast with intensely basophilic cytoplasm, presumably B cellular nature was observed (Fig. 4, Fig.5) (Fig. 4, Fig.5).

There was an uneven chromatin, hypertrophied multiple polymorphic nucleoli in the nuclei. Neoplastic cells phagocytosed erythrocytes (hemophagocytosis) or other lymphocytes (autophagocytosis) were also found (Fig. 5).

Cells showed signs of mitotic and amyotrophic division, apoptosis (Fig. 6).

According to the full blood test in the dynamics the increasing leukopenia, neutropenia, significant shift of the formula to the left, lymphocytosis and severe thrombocytopenia was observed (Table 1). Results of biochemical tests reflected changes that were characteristic of the growing renal-hepatic failure (Table 2).

18.04.2017, due to significant and rapid deterioration of the patient’s condition, a consilium was conducted. The conclusion of it was the following diagnosis: non-Hodgkin’s lymphoma IV stage, II clinical group. Generalized lymphadenopathy. Hepatolial syndrome. Polyserositis. Endogenous intoxication. Polyorganic insufficiency.

Day 6. 19.04.2017 Negative dynamics progressed, manifestations of poliorganic failure were worsened. On April 19, 2017 at 14:35 there was a stop of breathing and cardiac activity. Reanimation measures (artificial ventilation of the lungs, indirect heart massage) were ineffective for 40 minutes. Death of the patient is stated.

According to autopsy, mainly inflammatory-necrotic changes of the lymphatic system, spleen, liver, lungs and kidneys were detected. There was a morphological picture of the depletion of lymphoid tissue with secondary reactive changes and signs of lymphadenitis caused by prolonged antigenic stimulation of infectious genesis. The described changes were interpreted by morphologists as a non-tumor, angioblastic lymphadenopathy with unspecified immunodeficiency, which led to the development of polyorganic failure and death of the patient.

**Conclusion.** The presented clinical case illustrates the fulminant course of the terminal stage of angioimmunoblast T cell lymphoma associated with persistent EBV infection, which is confirmed with anamnesis of the disease, the results of histological, cytological, immunohis-

tochemical studies, negative dynamics of clinical symptomatology and autopsy results.

The process of lymphoma development is associated with EBV transforming B-, T-, NK-cells of the lymphoid system. Integration of viral genomes into neoplastic cells occurs. Lymphoproliferative processes associated with EBV, characterized with proliferation of polymorphic neoplastic cells of lymphoid origin with the presence of a small number of reaction elements such as neutrophils, eosinophils, and histiocytes [3].

Atypical EBV-positive lymphocytes are determined in the focus of lesions. In some cases, they resemble immunoblast, sometimes they are inherent signs of Hodgkin’s cells. There are also multinuclear cells similar to Berezovsky-Stemberg cells. T-cell lymphomas associated with EBV are often accompanied with hemophagocytic syndrome and the presence of expressive necrosis foci. There is a progressive destruction of tumor infiltrates of extranodal localization.

In case of angioplast T-cell lymphoma, tumorous T-cells are EBV-negative, but EBV-positive blast with basophilia of the cytoplasm of the B-cell nature is detected. For a long time, this lymphoma was regarded as an atypical reactive process, angioimmunoblastic lymphadenopathy with an increased risk of progression to lymphoma [3].

Nowadays, it has been established angioimmunoblast T cell lymphoma is a malignant tumor that occurs *de novo*. It is characterized with systemic lesions and the presence of generalized lymphadenopathy, expressive proliferation of high endothelium of venules and dendritic follicle cells. The disease is manifested as an aggressive course, infectious complications. The median survival rate does not exceed three years [2,3].

In determining the morphological diagnosis, there are some difficulties in differential diagnosis between immune processes and the type of lymphoma, due to the layering of reactive changes occurring in the lymph node and the present polymorphism of neoplastic cells. It is possible to solve this problem with using an immunohistochemical analysis and extended antibody panel to markers of lymphoid cells and molecular genetic studies. The purpose of the last is to detect, among all the diversity of process elements, a pool of monoclonal neoplastic cells [2,3].

We believe that the information provided by us will be useful for raising the awareness of general practitioners, specialists, morphologists about this pathological condition and will contribute to improving the diagnosis and effectiveness of treatment.

## REFERENCES

1. Афанасьева Т.А., Гурцевич В. Э. Молекулярно-биологические аспекты канцерогенеза, ассоциированного с вирусом Эпштейн-Бар // Молекулярная биология 1988; 32: 940-947.
2. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей/ Под ред. Д.Ф. Глузмана. – Киев: Морсион, 2003 – 156 с.
3. Диагностическая онкогематология / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – Киев: ДИА, 2011. – 256 с.
4. Федоренко З.П., Гулак П.О., Михайлович Ю.Й. та ін. Рак в Україні 2015-2016 рр. Захворюванність, смертність, показники діяльності онкологічної служби // Бюлетень національного канцер-реєстру України №18. Київ, 2017. – www.ncru.inf.ua/publications/BULL\_18/index.htm
5. Chene A., Donati D., Orem J., Bjorkman A., Mbidde E. R., Kironde F., Wahlgren M. et al. Endemic Burkitt's Lymphoma as a polymicrobial disease: new insights on the interaction between Plasmodium Falciparum and Epstein-Barr virus // Seminar in Cancer Biology 2009; 19:411-420.
6. Farrel P. J., Cludts I., Stahler A. Epstein-Barr virus genes and cancer cells // Biomed Pharmacother 1997; 51 :258-267.
7. Gisselbrecht C. Molecular signatures in T-cell lymphoma // Blood 2010; 115:919-920.
8. Heath CW, Brodsky AL, Potolsky AI. Infectious mononucleosis in a general population // Am J Epidemiol. 1972;95:46-52.
9. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis / eds.: A. Arvin [et al.]. - Cambridge: Cambridge University Press, 2007. - 1432 p.
10. Kanakry JA, Li H, Gellert LL, et al. Plasma Epstein-Barr virus DNA predicts outcome in advanced Hodgkin lymphoma: correlative analysis from a large North American cooperative group trial // Blood 2013; 121:3547.
11. Kenney j. L., Guinness m. E., Curiel T., Lucy J. Antisense to the Epstein-Barr virus (EBV)-encoded latent membrane protein 1 (LMP-1) suppresses LMP-1 and bcl-2 expressin and promotes apoptosis in EBV-immortalized B cell // Blood 1998; 92: 1721-1727
12. Komano J, Sugiura M, Takada K. Epstein-Barr virus contributes to the malignant phenotype and to apoptosis resistance in Burkitt's lymphoma cell line Akata // J Virol. 1998;72:9150–9156.
13. Lajo A, Borque C, Del Castillo F, et al. Mononucleosis caused by Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in children: a comparative study of 124 cases // Pediatr Infect Dis J. 1994;13:56-60.
14. Love C, Sun Z, Jima D, et al. The genetic landscape of mutations in Burkitt lymphoma. // Nat Genet 2012; 44 (12): 1321–25.
15. Lunning M. A., Vose J. M. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma: the many faced lymphoma Blood 2017; 09:69-54.
16. Mawson AR, Majumdar S. Malaria, Epstein-Barr virus infection and the pathogenesis of Burkitt's lymphoma // Int J Cancer. 2017 Nov 1;141(9):1849-1855.
17. Miller G. Biology of Epstein-Bar virus. In: G. Klein, ed. Viral Oncology: New York: Raven Press; 1980: 713-738.
18. Moormann AM, Snider CJ, Chelimo K. The company malaria keeps: how co-infection with Epstein-Barr virus leads to endemic Burkitt lymphoma Curr Opin Infect Dis. 2011 Oct;24(5):435-41.
19. Naresh K. Lymphoproliferative disorders in the immunosuppressed // Diagn Histopathol. - 2009. - Vol. 16. -P. 206-215.
20. Nicolae A, Pittaluga S, Abdullah S, et al. EBV-positive large B-cell lymphomas in young patients: a nodal lymphoma with evidence for a tolerogenic immune environment // Blood 2015; 126 (7): 863–72.
21. Oyama T., Ichimura K., Suzuki R., Suzumiya J., Ohshima K., et al. Senile EBV+ B-cell lymphoproliferative disorders: clinicopathologic study of 22 patients // American Journal Surgical Pathology 2003;27:16-26.
22. Pariente M, Bartolome J, Lorente S, et al. Age distribution of serological profiles of Epstein-Barr virus infection: review of results from a diagnostic laboratory [in Spanish] // Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007;25:108-110.
23. Parrens M., Martin A., Lamant L., Delarue R., Haioun C. et al. Angioimmunoblastic T-Cell Lymphoma (AITL) Is the Most Prevalent T-Cell Lymphoma Entity in Western Europe // Blood 2012;120:1607.
24. Relman DA. Chronic host-parasite interaction/ In: J Parsonnet, ed. Microbes and Malignancy Infection as a Cause of Human Cancers. Oxford: Oxford University Press, 1999:19-34.
25. . Rim MY, Hong J, Yo I, et al. Cervical lymphadenopathy mimicking angioimmunoblastic T-cell lymphoma after dapson-induced hypersensitivity syndrome // Korean J Pathol. 2012 Dec. 46(6):606-10.
26. Roschewski M. EBV-associated lymphomas in adults / M. Roschewski, W.H. Wilson // Best Pract Res Clin Haematol. - 2012. - Vol. 25, № 1. - P. 75-89.
27. Shiels MS, Koritzinsky EH, Clarke CA, et al. Prevalence of HIV Infection among U.S. Hodgkin lymphoma cases. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2014; 23:274
28. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N. L., Jaffe E. S., Pileri S. A., Stein H., Theile J. et al. Across Africa's "lymphoma belt" World Health Organization classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues; Lyon: IARC Press, 2008.
29. Urayama KY, Jarrett RF, Hjalgrim H, et al. Genome-wide association study of classical Hodgkin lymphoma and Epstein-Barr virus status-defined subgroups // J Natl Cancer Inst 2012; 104:240.
30. Welch JGG, Schwartz CL, Higman M, et al. Epstein-Barr virus DNA in serum as an early prognostic marker in children and adolescents with Hodgkin lymphoma // Blood Adv 2017; 1:681.
31. Yang YQ, Liang JH, Wu JZ, Wang L, Qu XY, Cao L, et al. Elevated absolute monocyte count predicts unfavorable outcomes in patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma // Leuk Res. 2015 Dec 24.
32. Yao Q.Y., Ogan P., Rowe M. et al. Epstein-Barr virus infected B cells persist in the circulation of acyclovir-treated virus carriers //Int J Cancer 1989; 43: 67-71.

## SUMMARY

### FROM THE PERSISTENT EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION TO ANGIOIMMUNOBASTIC T-CELL LYMPHOMA - DRAMATIC CONVERGENCE. ANALYSIS OF THE CLINICAL CASE

<sup>1</sup>Mostovoy Y., <sup>1</sup>Demchuk A., <sup>1</sup>Konstantynovych T., <sup>2</sup>Chichirelo-Konstantynovych K., <sup>3</sup>Demchuk A.

*National Pirogov Memorial Medical University, <sup>1</sup>Prope-  
deutic Department of Internal Medicine; <sup>2</sup>Department of  
Infection Diseases, Vinnytsya; <sup>3</sup>Podilskiy Regional Onco-  
logical Center, Cytological Laboratory, Ukraine*

The problem of timely diagnosis and effective treatment of EBD-associated lymphoproliferative diseases is associated with a large variety of morphological and

immunological manifestations, which require a powerful, highly specific immunohistochemical and molecular genetic research methods for the correct assessment. The article elucidates current information about the pathogenesis of oncogenic EBV infection, the main clinical forms of associated lymphoproliferative processes, their main diagnostic criteria. The given clinical case of angioimmunoblastic T cell lymphoma clearly demonstrates the complexity of the diagnostic process, underestimation of informativity and the importance of molecular genetic research, which led to the rejection of chemotherapeutic treatment, the rapid progression of the terminal stage of lymphoproliferative disease with the development of polyorgan failure and lifetime destruction, necrosis of the structural components of the tumor, as a result of which during the autopsy of morphological signs of lymphoma was not detected.

**Keywords:** Epstein-Barr virus infection, lymphoproliferative diseases, angioimmunoblast T-cell lymphoma, immunohistochemical diagnosis.

## РЕЗЮМЕ

### ОТ ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ ЭПШТЕЙН-БАР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ДО АНГИОИММУНОБЛАСТНОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ – ТРАГИЧЕСКОЕ ПЕРЕВОПЛОЩЕНИЕ. АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

<sup>1</sup>Мостовой Ю.М., <sup>1</sup>Демчук А.В.,

<sup>1</sup>Константинович Т.В.,

<sup>2</sup>Чичерельо-Константинович К.Д., <sup>3</sup>Демчук А.В.

*Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, <sup>1</sup>кафедра пропедевтики внутренней медицины; <sup>2</sup>кафедра инфекционных болезней; <sup>3</sup>Подольский региональный центр онкологии, цитологическая лаборатория, Украина*

Проблема своевременной диагностики и эффективного лечения ассоциированных с вирусом Эпштейн-Бара (ЭБВ) лимфопролиферативных заболеваний связана с большим разнообразием морфологических и иммунологических проявлений, для корректной оценки которых необходимы мощные высокоспецифичные иммуногистохимические и молекулярно-генетические методы исследования. Представлен анализ современных данных о патогенезе онкогенности ЭБВ инфекции, об основных клинических формах ассоциированных лимфопролиферативных процессов и их диагностических критериях. Приводится клинический случай ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы, ярко демонстрирующий сложности диагно-

стического процесса, недооценку информативности и значимости молекулярно-генетического исследования, что привело к отказу от химиотерапевтического лечения, стремительному прогрессированию терминальной стадии лимфопролиферативного заболевания с развитием полиорганной недостаточности с прижизненным разрушением и некрозом структурных составляющих опухоли, вследствие чего во время аутопсии морфологические признаки лимфомы не были выявлены.

## რეზიუმე

ეპშტეინ-ბარის პერსისტირებული ინფექციიდან T-უჯრედულ ანგიოიმუნობლასტურ ლიმფომამდე – ტრაგიკული გარდასახვა (კლინიკური შემთხვევა)

<sup>1</sup>ი. მოსტოვოი, <sup>1</sup>ა. დემჩუკი, <sup>1</sup>ტ. კონსტანტინოვიჩი, <sup>2</sup>კ. ჩიჩერელო-კონსტანტინოვიჩი, <sup>3</sup>ა. დემჩუკი

ვინიცას ნ. პიროგოვის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, <sup>1</sup>შინაგან დაავადებათა პროპედევტიკის კათედრა; <sup>2</sup>ინფექციურ დაავადებათა კათედრა; <sup>3</sup>პოდოლსკის ონკოლოგიის რეგიონული ცენტრი, ციტოლოგიის ლაბორატორია

ეპშტეინ-ბარის ვირუსულ (ეპე) ინფექციასთან ასოცირებული ლიმფოპროლიფერაციული დაავადების დროული დიაგნოსტიკის და ეფექტური მკურნალობის პრობლემა დაკავშირებულია მორფოლოგიური და იმუნოლოგიური გამოვლინებების მრავალფეროვნებასთან, რომელთა სწორი შეფასებისათვის აუცილებელია კვლევის მძლავრი, მაღალსპეციფიკური იმუნოჰისტოქიმიური და მოლეკულურ-გენეტიკური მეთოდები. სტატიაში განხილულია ეპე ინფექციის ონკოგენურობის პათოგენეზის საკითხები, ასოცირებული ლიმფოპროლიფერაციული პროცესების ძირითადი კლინიკური ფორმები, მათი ძირითადი სადიაგნოსტიკო კრიტერიუმები. T-უჯრედული ანგიოიმუნობლასტური ლიმფომის წარმოდგენილი კლინიკური შემთხვევა მკაფიოდ წარმოაჩენს სადიაგნოსტიკო პროცესის სირთულეს, მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევის ინფორმატიულობისა და მნიშვნელობის შეუფასებლობას, რამაც გამოიწვია უარის თქმა ქიმიოთერაპიის ჩატარებაზე, ლიმფოპროლიფერაციული დაავადების ტერმინალური სტადიის ელვისეური პროგრესირება პოლიორგანული უკმარისობის განვითარებით და სიმსივნის შემადგენელი სტრუქტურების ნეკროზით, რის შედეგადაც აუტოფსიის დროს ლიმფომის მორფოლოგიური ნიშნები გამოვლენილი არ იქნა.



## ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE ORGANS OF THE IMMUNE SYSTEM UNDER THE INFLUENCE OF XENOBIOTICS

Avilova O., Shyian D., Marakushin D., Erokhina V., Gargin V.

*Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine*

Development of human civilization since the XX century is undoubtedly connected with more efficient food distribution chaining processes as chronic lack of time in highly developed societies resulted in changes in their lifestyles and in patterns of consumption [17]. Migration from FCM might be the largest source of food contamination in terms of amount as well as the number of substances. Nonetheless, maybe because of its complexity, but also the little alerting character (clean-looking materials, no intention of being toxic like pesticides), it was not given corresponding weight for a long time [7].

Nowadays scientific achievements in various areas of lives have caused the creation of more and more «foreign body substances» known as xenobiotics. Different chemical have the detrimental effect on the body systems and, thus, all humanity. Diverse xenobiotics have an immuno-suppressive effect and, therefore, the organism becomes responsive to viral, bacterial and parasitic diseases [5]. Exposure to environmental contaminants can produce profound effects on the immune system. Many different classes of xenobiotics can significantly suppress or enhance immune responsiveness depending on the levels (i.e. dose) and context (i.e. timing, route) of exposure [8]. The immune system reacts sensitively to a concentration of chemical substances that are not yet toxic to other systems of the organism [6]. Understanding how environmental contaminants impact immune responsiveness not only helps in the effective regulation of pollutants and improving public health, but also provides novel insights into basic functions of the immune system [8].

The immune system plays a crucial role in maintaining health; however, accumulating evidence indicates that this system can be the target for immunotoxic effects caused by a variety of chemicals including the environmental pollutants. The thymus and spleen are primary lymphoid organ that manifests dynamic physiological changes as animal age in addition to being exquisitely sensitive to stress and toxic insult [6, 13] with the first lymphoid tissue to respond to immunotoxic xenobiotics in that organs usually.

One of xenobiotics type is class of polyethers belonging to the group called “Laproxides”, which are used in various sectors of the economy for the obtaining plastics, epoxy resins, lacquers, enamels, adhesives, etc. For the present research widely used polyether – tryglycidyl ether of polyoxypropylenetriol (TEPPT) [2,12] with molecular weight 303 (L-303) was chosen. Manufactures based on polyethers are used in machine-building, radio engineering, pharmaceutical, chemical, aviation, automotive and

other branches of the national economy. The choice of this group of substances was performed due to large volumes of production, extensive contact with the population, the lack of prognostic characteristics of their potential danger for humans and warm-blooded animals, and the need to justify pathological mechanisms of structural and metabolic disorders under prolonged intake of subtoxic doses. As it is widely accepted that human health is a product of both genetics and the environment; a premise that also holds true for the immune system [8] with unclear morphogenetic aspect we select the purpose of our work as detection of ultrastructural changes in the spleen and thymus under the influence of tryglycidyl ether of polyoxypropylenetriol and propylene glycol.

**Material and methods.** Experimental work was performed as a part of the research topic of the Human Anatomy department of the Kharkiv National Medical University «Morphological features of the organs and systems of the human body at the stages of ontogenesis”, (number of the state registration 0114U003388) as we described before [2]. The study was performed on 72 outbred WAG male matured rats with the weight  $200\pm 10$ g. The control and experimental series consisted of animals of the same age. Animals were divided into 2 series. The first seria - control animals (3 groups, 8 animals in each), were fed a regular diet and received an appropriate amount of water. The second seria was experimental animals. They were randomly divided into 3 groups 8 in each depending on the dose of induced polyether and duration of administration: 7 days, 15 days, 30 days and 45 days. All laboratory animals were maintained in the conventional environment of Kharkiv National Medical University vivarium in a controlled-temperature room  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ , humidity  $65\pm 10\%$ . All rats were treated via gastric gavage during 7, 15, 30, 45 days by aqueous solutions of TEPPT and propylene glycol (PP) in the doses 1/10 and 1/100 LD50 in conversion to 5.75 g/kg and 26.38 g/kg. At the end of the investigation, changes were observed. Food intake and body weight were measured every 2 days. All rodents were deduced from the experiment by immediate cervical dislocation according to European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 18.03.1986), principles of Ukrainian law №3447-IV about the protection of animals from cruel treatment.

Ultramicroscopic examination of the spleen and thymus has been performed also. For electron microscopic examination immediately after removing a pieces of spleen and thymus with a volume of 1 mm<sup>3</sup> were immersed in a glutaraldehyde fixator according to M.Karnovsky for 24



hours. After this, the material was kept in 1% osmium tetroxide according to G.Palade for 1 hour, dehydrated in ethanol of increasing concentration and absolute acetone, poured with a mixture of epoxy resins (epon-araldit). Polymerization was carried out for 36 hours at 60°C. Ultrathin sections 0.5  $\mu\text{m}$  thickness were made on ultramicrotome UMTF-4 of Sumy Electron factory (Ukraine), contrasted in a solution of uranyl acetate and lead citrate according to E.Reynolds and investigated in an electron microscope EM-125 with the following photographing. Part of obtained material was fixed in 10% neutral buffered formalin for 24 hours, were subjected to standard proceeding and embedded in paraffin. From the prepared blocks made serial sections thick  $5 \times 10^{-6}$  m. Slides were stained with hematoxylin and eosin (H&E) [2]. Histological examination of removed spleens was performed according to accepted guidelines with microscope «Olympus BX41» followed by morphometric study using «Olympus DP-soft 3.12» program. All values are expressed as means, standard deviation and standard error of the mean for statistical analysis. Statistical comparison was performed using Mann-Whitney test for statistical analysis [11]. The accepted level of significance was  $p \leq 0.05$ .

**Results and their discussion.** We described the received and analyzed data about macroscopical and histological changes of spleen under TEPPT influence in previous work [2]. We detected that The spleen is very sensitive to the effects of xenobiotics.

In rats after the administration of TEPPT, white pulp of spleen is represented by periarterial lymphoid follicles occasionally containing germinal centers (Fig. 1b). The diameter of the lymph follicles is statistically significantly different with the control data from 7th day, in later observation periods the indices become smaller than in the control groups [2]. The germinal centers of the lymph nodes in the early periods of observation are visualized only in single lymphatic follicles. Their diameter is smaller than in groups of control animals. The parameters of the width of the mantle and marginal zones of lymphatic follicles are also reduced in comparison with the control. The central arteries of lymphatic follicles have thicker walls due to the development of sclerotic changes. Trabecular connective tissue is well defined, its thickness is increased. Morphometric data prove that TEPPT is even reflected in histological features (reliable changes of the of the white pulp area of the spleen from  $17.87 \pm 1.04\%$  to  $27.37 \pm 1.71\%$ , diameter of lymphatic follicles from  $426.59 \pm 11.18 \mu\text{m}$  to  $382.31 \pm 11.73 \mu\text{m}$ , width of the mantle zone from  $45.73 \pm 1.08 \mu\text{m}$  to  $37.18 \pm 2.29 \mu\text{m}$ , width of the marginal zone from  $81.32 \pm 1.79 \mu\text{m}$  to  $74.63 \pm 2.08 \mu\text{m}$ , width of the periarterial zone from  $88.73 \pm 2.69 \mu\text{m}$  to  $97.24 \pm 2.61 \mu\text{m}$ ) [2].

The cellular composition of the white pulp of the spleen is represented by small, medium and large lymphocytes, plasmocytes, and macrophages, but small forms of lymphocytes predominate. There are cells of the my-

eloid sprout series: neutrophilic, eosinophilic, basophilic granulocytes and erythrocytes.

Large, rounded nuclei of small lymphocytes are evenly surrounded by a narrow rim of the cytoplasm in control group (Fig. 1a). The nuclei are dominated by compact heterochromatin, which belongs to the inner nuclear membrane in the form of a wide girdle, passing into centrally located clumps, between which is a diffuse euchromatin. Margination of chromatin has been observed. Nuclei often have invaginations of karyolemma, sometimes they contain nucleolus, dilatation of mitochondria (Fig. 1c-f).

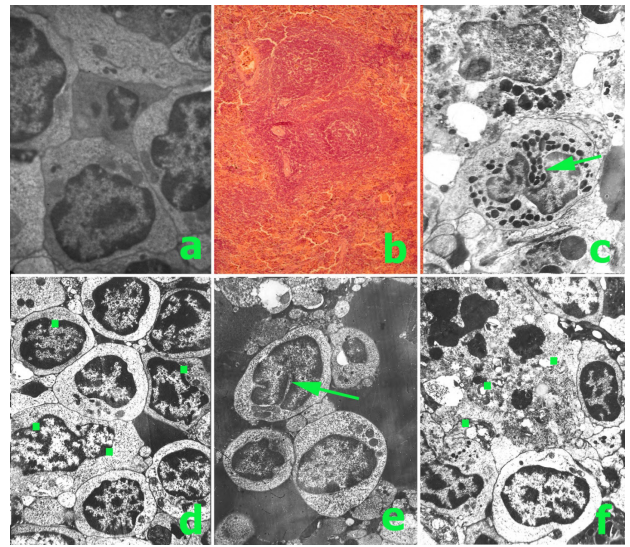


Fig. 1. Electron microscopy of spleen from control group, magnification  $\times 8000$  (a); Histological structure of spleen after 45 days of treating by solutions of TEPPT in the dose  $1/10 LD_{50}$ , H&E stain, magnification  $\times 100$  (b); Ultrastructural changes in spleen under influence of xenobiotics with diffuse euchromatin in nuclei, appearance of pronounced invaginations of karyolemma (arrows), condensed, wrinkled cytoplasm, chromatin aggregation in the form of clumps of various shapes and sizes with peripheral localization of chromatin (dots on (d)), dilatation of mitochondria, vacuolization of cytoplasm (dots on (f)); all electron microscopy images are obtained on magnification  $\times 8000$  (c-f).

Changes characterized by pronounced polymorphism in the structure of white pulp have been revealed in electron microscopic examination of the spleen of animals after application of xenobiotics. Significant amount of lymphocytes with signs of apoptosis has been detected in white pulp after 7, 15, 30, 45 days of TEPPT and PP application. There is the presence of a condensed, wrinkled cytoplasm, a densified nuclei, which have sinuous contours, chromatin aggregation in the form of clumps of various shapes and sizes, the appearance of clavate protrusions, deep invaginations and constrictions of the nuclear envelope with fragmentation of the nucleus in later stages in such these cells (Fig. 1c-f). Amount of cellular elements of spleen is reduced in 45 days (Table 1).

Table. Influence of the 1/100 LD<sub>50</sub> and 1/10 LD<sub>50</sub> of TEPPT and PP on the general amount of cellular elements of thymus and spleen in square 10<sup>4</sup> μm<sup>2</sup>

Organ	Area of organ	Control	TEPPT		PP	
			1/100 LD <sub>50</sub>	1/10 LD <sub>50</sub>	1/100 LD <sub>50</sub>	1/10 LD <sub>50</sub>
Spleen	Mantle zone of follicle	171.1±4.1	152.4±8.4	123.7±10.8*	162.7±7.9	143.6±8.9*
	Marginal zone of follicle	104.6±3.8	89.3±6.9	79.4±9.7*	93.2±6.4	84.2±7.3*
Thymus	Cortical zone of thymus	180.1±3.9	158.4±6.8*	128.3±9.1*	165.9±5.8	148.1±8.5*
	Medullar zone of thymus	137.4±3.7	117.8±7.2	98.6±8.3*	124.7±6.7	108.9±7.6*

note: \* - statistically significant differences with the control group (p<0.05)

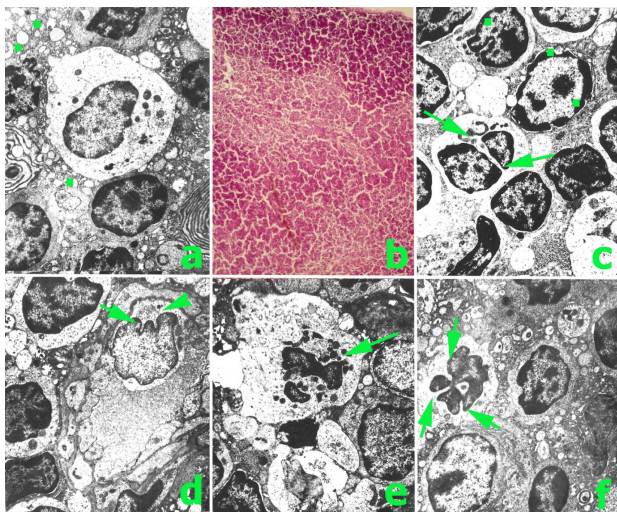


Fig. 2. Electron microscopy of thymus with dense nuclei and the presence of granules or vacuoles filled with amorphous substance in the medullar layer (dots), developed endoplasmaticular reticulum, magnification x8000 (a); Histological structure of thymus after 45 days of treating by solutions of TEPPT in the dose 1/10 LD<sub>50</sub>, H&E stain, magnification x100 (b); Ultrastructural changes in thymus under influence of xenobiotics with diffuse euchromatin in nuclei, appearance of pronounced invaginations of karyolemma (arrows on (d) and (f)) till fragmentation of nuclei (arrow on (e)), condensed, wrinkled cytoplasm, chromatin aggregation in the form of clumps of various shapes and sizes with peripheral localization (dots on (c)), dilatation of mitochondria, vacuolization of cytoplasm; all electron microscopy images are obtained on magnification x8000 (c-f)

Histological structure of thymus lobules was presented of cortical and medullar substance (Fig. 2b). In the structure of these components, there were very subtle morphological no principal differences. Therefore, when we described the ultrastructure of the cells of the organ under investigation, we considered it possible not to separate the cells of the medulla and cortex separately, especially since the changes observed during the experiment had a similar, unidirectional character.

According to usual structure Gassal's bodies have been detected in the medullar substance as concentric clusters of degenerating stellate thyocytes. Large epithelial have been revealed also as cells with a rounded, weak or medium electron density nucleus and the presence of granules or vacuoles filled with amorphous substance in the medullar layer (Fig. 2a).

Phenomena evidencing both hydropic dystrophy, as well as changes interpreted as signs of apoptosis have been revealed in the epithelial cells. There is significantly increased amount of cells with such changes compared to control group. In particular, apoptosis was indicated by such signs as a sharp increase of the electron-optical density of the cytosol with a decrease in the density of the cytoplasm (cytopiconosis) and shrinkage of the nucleus (karyopiconosis), accompanied by an increase in chromatin condensation in the karyoplasm.

Loosening of the cytosol has been observed in many thymocytes with a decrease in the optical density of the cytoplasm and decrease of the density of the mitochondrial matrix with the enlightment of the organelles and a violation of the ordered arrangement of cristae there, dilatation of the channels of the cytoplasmic reticulum, and decrease in the level of chromatin in the nuclei. The described ultrastructural changes were regarded by us as manifestations of hydropic dystrophy (fig. 2c-f). Amount of cellular elements of thymus is reduced in 45 days of experiment (Table).

Similar changes have been observed in the lymphocytes of the thymus. Thus, in particular, a sharp decrease in the chromatin content has been noted in the nuclei of the cells with clarification of the central part of the nuclei and the condensation of small amounts of heterochromatin near the nuclear membrane. Thus, the obtained results testify about the development of hydropic dystrophy in cellular elements of the thymus on the one hand, and the intensification of apoptosis processes on the other, as influence of TEPPT and PP [10].

So, the revealed structural changes in the spleen of animals indicate the hypoplasia of white pulp, which some authors attribute to the increased incidence of apoptosis and a decrease in the level of cell proliferation in response to the effect of an unfavorable factor [3,6].



Our results clearly show that influence of TEPPT and PP in thymus and spleen is directly involved in thymocyte loss with more active process of involution due to activation of apoptosis and appearance of degenerative changes [16]. They also indicate that spleen is characterized injuring both T-zone and B-zone suppression. It can realize in immunosuppression as evaluation of the immunotoxic potency of agents as part of risk assessment is currently established in vivo with animal models and in vitro with cell lines or primary cells in different organs under influence of xenobiotics [9,14,15].

Ultrastructural changes of thymus and spleen due to the presence of lymphocytes, the immunotoxic effects of xenobiotics or their metabolites on these cell populations may be reflected in the thymus and spleen even more significantly. The two major functional organs of the immune system with specific decreased cellularity, as it could be suggestive of deficits immune responses [1,4].

The induction of 1/10LD<sub>50</sub> and 1/100LD<sub>50</sub> is characterized severe impact that is apparently explained by the dose, and, hence during investigation was noticed that this dose has statistically significant impact almost on all indicators of cellular morphometry on 45<sup>th</sup> day.

**Conclusions:** On the base of obtained results we can conclude that structure of spleen and thymus is susceptible to influence of tryglycidyl ether of polyoxypropylene triol and propylene glycol. Ultrastructural changes in those organs of the immune system are characterized by margination of chromatin in nuclei, appearance of pronounced invaginations of karyolemma till fragmentation of nuclei; condensed, wrinkled cytoplasm, dilatation of mitochondria, vacuolization of cytoplasm. Such changes are manifestation of hydropic dystrophy and apoptosis development with resulting in reducing of cellular density in 45 days more pronounced under TEPPT influence with 1/10 LD<sub>50</sub> dose: in mantle zone of spleen follicle from 171.1±4.1 to 123.7±10.8 cells/10<sup>4</sup> μm<sup>2</sup>, in marginal zone of spleen follicle from 104.6±3.8 to 79.4±9.7, in cortical zone of thymus from 180.1±3.9 to 128.3±9.1, in medullar zone of thymus from 137.4±3.7 to 98.6±8.3.

## REFERENCES

1. Ansari MA, Shukla AK, Oves M, Khan HM. Electron microscopic ultrastructural study on the toxicological effects of AgNPs on the liver, kidney and spleen tissues of albino mice. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2016 Jun;44:30-43.
2. Avilova O, Marakushin D, Nakonechna O, Gargin V. Microscopic features of the spleen under the influence of laproxides. *Georgian Med News*. 2018 Feb;(275):163-167.
3. Baik J, Stringer KA, Mane G, Rosania GR. Multiscale distribution and bioaccumulation analysis of clofazimine reveals a massive immune system-mediated xenobiotic sequestration response. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Mar;57(3):1218-30.
4. Bryson JL, Griffith AV, Hughes B, Saito F, Takahama Y, Richie ER, Manley NR. Cell-autonomous defects in thymic epithelial cells disrupt endothelial-perivascular cell interactions in the mouse thymus. *PLoS One*. 2013 Jun 4;8(6):e65196.

5. Burns EC, Dhodda R, Padas-Farmer S, Fluhler E, Guthrie R, Bennett P, Ji QC. Report on the 18th Annual Land O'Lakes Bioanalytical Conference. *Bioanalysis*. 2018 Apr 1;10(7):445-449.
6. De Jong WH, Van Loveren H. Screening of xenobiotics for direct immunotoxicity in an animal study. *Methods*. 2007 Jan;41(1):3-8.
7. Grob K. The European system for the control of the safety of food-contact materials needs restructuring: a review and outlook for discussion. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2017 Sep;34(9):1643-1659.
8. Kreitinger JM, Beamer CA, Shepherd DM. Environmental Immunology: Lessons Learned from Exposure to a Select Panel of Immunotoxicants. *J Immunol*. 2016 Apr 15;196(8):3217-25.
9. Lytvynenko M, Bocharova T, Zhelezniakova N, Narbutova T, Gargin V. Cervical transformation in alcohol abuse patients. *Georgian Med News*. 2017 Oct;(271):12-17.
10. Mikušová R, Mešťanová V, Polák Š, Varga I. What do we know about the structure of human thymic Hassall's corpuscles? A histochemical, immunohistochemical, and electron microscopic study. *Ann Anat*. 2017 May;211:140-148.
11. Myers J.L.; Well A.D. (2003). *Research Design and Statistical Analysis* (2nd ed.). Lawrence Erlbaum. p. 508.
12. National Toxicology Program Nonneoplastic Lesion Atlas: A Guide for Standardizing Terminology in Toxicologic Pathology for Rodents [Internet]. Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program; 2014 [cited 2017 Jun 21]. Available from: <https://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm>.
13. Nohara K, Pan X, Tsukumo S, Hida A, Ito T, Nagai H, Inouye K, Motohashi H, Yamamoto M, Fujii-Kuriyama Y, Tohyama C. Constitutively active aryl hydrocarbon receptor expressed specifically in T-lineage cells causes thymus involution and suppresses the immunization-induced increase in splenocytes. *J Immunol*. 2005 Mar 1;174(5):2770-7.
14. Romaniuk AM, Sauliak SV, Moskalenko RA, Moskalenko IuV. [Spermatogenic function under the influence of heavy metal salts and its correction by preparation Tivortin]. [Article in Ukrainian]. *Lik Sprava*. 2012 Jan-Mar;(1-2):123-8.
15. Sewald K, Braun A. Assessment of immunotoxicity using precision-cut tissue slices. *Xenobiotica*. 2013 Jan;43(1):84-97.
16. Sutjarit S, Poapolathep A. Fusarenon-X-induced apoptosis in the liver, kidney, and spleen of mice. *J Toxicol Pathol*. 2016 Jul;29(3):207-11.
17. Szczepanska N, Kudlak B, Namiesnik J. Recent advances in assessing xenobiotics migrating from packaging material - A review. *Anal Chim Acta*. 2018;1023:1-21.

## SUMMARY

### ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE ORGANS OF THE IMMUNE SYSTEM UNDER THE INFLUENCE OF XENOBIOTICS

**Avilova O., Shyian D., Marakushin D., Erokhina V., Gargin V.**

*Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine*

Nowadays scientific achievements in various areas of lives have caused the creation of more and more «foreign body substances» known as xenobiotics. As it is widely accepted that human health is a product of both genetics

and the environment; and premise that also holds true for the immune system with unclear morphogenetic aspect, so we selected the purpose of our work as detection of ultrastructural changes in the spleen and thymus under the influence of tryglycidyl ether of polyoxypropylenetriol (TEPPT) and propylene glycol (PP).

Subacute experiment has been performed on the matured male rat's with administration of 1/10 LD<sub>50</sub> and 1/100 LD<sub>50</sub> of TEPPT and PP during 7 days, 15 days, 30 days and 45 days. Obtained materials of spleen and thymus have been investigated with ultramicroscopic and histological examination. Detection of cellular density has been performed.

On the base of obtained results we can conclude that structure of spleen and thymus is susceptible to influence of TEPPT and PP. Ultrastructural changes in those organs of the immune system are characterized by margination of chromatin in nuclei, appearance of pronounced invaginations of karyolemma till fragmentation of nuclei; condensed, wrinkled cytoplasm, dilatation of mitochondria, vacuolization of cytoplasm. Such changes are manifestation of hydropic dystrophy and apoptosis development with resulting in reducing of cellular density in 45 days more pronounced under TEPPT influence with 1/10 LD<sub>50</sub> dose: in mantle zone of spleen follicle from 171.1±4.1 to 123.7±10.8 cells/10<sup>4</sup> μm<sup>2</sup>, in marginal zone of spleen follicle from 104.6±3.8 to 79.4±9.7, in cortical zone of thymus from 180.1±3.9 to 128.3±9.1, in medullar zone of thymus from 137.4±3.7 to 98.6±8.3.

**Keywords:** spleen, thymus, immunotoxicology, morphology, xenobiotics, polyesters, propylene glycol.

## РЕЗЮМЕ

### УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ КСЕНОБИОТИКОВ

Авилова О.В., Шиян Д.Н., Маракушин Д.И.,  
Ерохина В.В., Гаргин В.В.

*Харьковский национальный медицинский университет, Украина*

Целью исследования явилось определение ультраструктурных изменений селезенки и тимуса под воздействием триглицидилового эфира полиоксипропиленetriола и полипропиленгликоля.

При проведении подострого эксперимента изучали ультраструктурные изменения селезенки и тимуса зрелых крыс-самцов после введения 1/10 LD<sub>50</sub> и 1/100 LD<sub>50</sub> триглицидилового эфира полиоксипропиленetriола (ТЭППТ) и пропиленгликоля (ПП) на протяжении 7, 15, 30 и 45 дней. Полученный материал изучали с помощью электронной и световой микроскопии. Определяли клеточную плотность.

На основании полученных результатов следует заключить, что ткань селезенки и тимуса чувствительна к воздействию ТЭППТ и ПП. Ультраструктурные изменения в органах иммунной системы характеризуются маргинацией хроматина в ядрах, появлением выраженных инвагинаций кариолемы вплоть до фрагментации ядер; конденсацией цитоплазмы, дилатацией митохондрий, вакуолизацией цитоплазмы. Такие изменения соответствуют развитию гидropической дистрофии и апоптоза, что приводит к снижению клеточной плотности спустя 45 дней, более выраженному при воздействии ТЭППТ в дозе 1/10 LD<sub>50</sub>: в мантийной зоне фолликула селезенки - с 171,1±4,1 до 123,7±10,8 клеток/10<sup>4</sup> мкм<sup>2</sup>, в маргинальной зоне фолликула селезенки - с 104,6±3,8 до 79,4±9,7, в кортикальной зоне тимуса - с 180,1±3,9 до 128,3±9,1, в мозговой зоне тимуса - с 137,4±3,7 до 98,6±8,3.

## რეზიუმე

იმუნური სისტემის ორგანოების ულტრასტრუქტურული ცვლილებები ქსენობიოტიკების მოქმედების ფონზე

ო. ავილოვა, დ. შიიანი, დ. მარაკუშინი, ვ. ეროხინა,  
ვ. გარგინი

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა ელენთის და თიმუსის ულტრასტრუქტურული ცვლილებების გამოვლენა პოლიოქსიპროპილენტრიოლის ტრიგლიციდილოვანი ეთერის (ტეპტე) და პოლიპროპილენგლიკოლის (პპ) ზმოქმედების ფონზე.

ქვემოწვევ ექსპერიმენტში შესწავლილია ზრდასრული მამრი ვირთაგვების ელენთის და თიმუსის ულტრასტრუქტურული ცვლილებები 1/10 LD<sub>50</sub> და 1/100 LD<sub>50</sub> პტე-ს და პპ-ს შეყვანის შემდეგ 7, 15, 30 და 45 დღის განმავლობაში. მიღებული მასალა შეისწავლებოდა ელექტრონული და სინათლის მიკროსკოპით. განისაზღვრებოდა უჯრედული სიმჭიდროვე.

მიღებული შედეგების საფუძველზე დადგინდა, რომ ელენთის და თიმუსის ქსოვილი მგრძობიარეა პტე-ის და პპ-ის მოქმედების მიმართ. იმუნური სისტემის ორგანოებში განვითარებული ულტრასტრუქტურული ცვლილებები ხასიათდება ქრომატინის მარგინაციით ბირთვებში, კარიოლემის გამოხატული ინვაგინაციების გაჩენით, ბირთვების ფრაგმენტაციამდე კი, ასევე, ციტოპლაზმის კონდენსაციით, მიტოქონდრიების დილატაციით, ციტოპლაზმის ვაკუოლიზაციით. ასეთი ცვლილებები შეესაბამება დისტროფიის და აპოპტოზის განვითარებას, რაც განაპირობებს უჯრედული სიმჭიდროვის შემცირებას 45



დღის შემდეგ, უფრო გამოხატულს პპტეის ზემოქმედების შემდეგ დოზით 1/10 LD<sub>50</sub>: ელენთის ფოლიკულის მანტიის ზონაში 171,1±4,1-დან 123,7±10,8 უჯრედამდე/10<sup>4</sup>მკმ<sup>2</sup> ელენთის ფოლი-

კულის მარგინალურ ზონაში - 104,6±3,8-დან 79,4±9,7-მდე, თიმუსის კორტიკულ ზონაში - 180,1±3,9-დან 128,3±9,1-მდე, თიმუსის ტვინოვან ზონაში - 137,4±3,7-დან 98,6±8,3-მდე.

## КОРРЕЛЯЦИЯ СТЕПЕНИ МЕХАНИЧЕСКОЙ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ БЕЛКА $\mu$ -ОПИОИДНОГО РЕЦЕПТОРА В РАЗЛИЧНЫХ ФАЗАХ ОВАРИАЛЬНО-МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА

Абхазава М.В., Квачадзе И.Д., Цагарели М.Г., Мжаванадзе Д.Ш., Чичинадзе Г.Н.

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент физиологии, Грузия*

На сегодняшний день установлено колебание степени выраженности многих физических и психологических симптомов, в том числе головной боли, кровяного давления, вздутия живота, депрессии и тревоги, во время овариально-менструального цикла (ОМЦ) [34,36]. Результаты большого числа исследований, проведенных на животных, а также нескольких работ с участием женщин-добровольцев, показывают влияние половых гормонов на болевую чувствительность и реакцию на анальгетики [1,11,15,24,41]. Вследствие чего, изучение влияния ОМЦ на ноцицептивную реактивность является актуальным для многих направлений клинических исследований, в том числе выявления гормональных модуляторов боли, повышения качества диагностики, а также разработки новых подходов к лечению и профилактике острого и хронического болевого синдрома у женщин.

На основании метаанализа исследований боли был сделан вывод, что в лютеиновой фазе ОМЦ в сравнении с фолликулярной отмечалось усиление болевой чувствительности, индуцированной термическими, механическими и электрическими стимулами [36]. Однако, в более поздних исследованиях получены противоречащие друг другу результаты [7,37]. Противоречивые результаты выявлены также при изучении влияния некоторых отдельных половых гормонов на болевую чувствительность, в том числе при введении гормональных препаратов, в частности имеются данные о повышении механического болевого порога на фоне приема препарата искусственного прогестерона среди 188 здоровых добровольцев [28], аналогично у лабораторных крыс-самок после приема прогестерона отмечалась анальгезия [19], в то же время, в другом исследовании, проведенном на лабораторных мышцах-самках, обнаружено развитие гипералгезии после подкожного введения прогестерона [42]. Различные результаты получены также при изучении влияния пролактина на болевую чувствительность. В результате некоторых исследований [20,33] установлено, что данный гормон не оказывает какого-либо влияния на болевой порог, либо порог болевой чувствительности, в то же время имеются данные

о роли пролактина как негативного модулятора болевой чувствительности [22].

Авторы нескольких работ ставят под сомнение возможность формулировки окончательных выводов на основании некоторых вышеупомянутых исследований исходя из наличия нескольких методологических ограничений в примененных процедурах [7,17]. В нескольких из вышеперечисленных исследований среди участниц не проводился сбор анамнестических данных о регулярности ОМЦ. Во многих исследованиях отсутствовали данные об определении концентрации половых гормонов с целью уточнения фаз ОМЦ [17,18,39]. Кроме того, большинство исследований проведено на небольших группах объектов. Несмотря на то, что привлечение большого количества участниц в исследования ОМЦ сопряжено с определенными трудностями, исследования на небольших выборках не позволяют обобщить результаты, понижают их достоверность, либо приводят к ложным результатам [7].

В формировании острого и хронического болевого синдрома, наряду с ноцицептивной системой, активно участвует эндогенная опиоидная система [43]. Среди структур, принадлежащих к эндогенной опиоидной системе, ключевая роль принадлежит  $\mu$ -опиоидному рецептору (MOR), активация которого происходит при взаимодействии с эндогенными, либо экзогенными опиатами. В результате активации расположенных на пресинаптических терминалях ноцицептивных нейронов MOR, посредством ингибирования потенциалзависимых кальциевых каналов, происходит уменьшение высвобождения медиатора, что приводит к снижению проводимости нервных импульсов от ноцицепторов в центральную нервную систему. Локализованные также и на постсинаптической терминали MOR обеспечивают понижение возбудимости путем активации G-белок управляемых K-каналов [38]. Результаты многочисленных исследований последних лет указывают на тканеспецифические модулирующие влияния эндогенных агентов, сопутствующих различным патологическим процессам, а также фармакологических веществ на экспрессию гена MOR, и соответственно на изменение концентра-

ции кодируемого им рецепторного белка [2,23,25,46,47]. В большом количестве научных работ изучено модулирующее воздействие как эндогенных, так и экзогенных опиатов на уровень гипофизарных и яичниковых половых гормонов [12,26,40]. Однако на сегодняшний день имеются довольно скудные данные о влиянии женских половых гормонов на экспрессию гена MOR, в частности в физиологических условиях – среди здоровых молодых женщин [27,29,30].

Механическое давление является одним из наиболее часто применяемых классических методов генерации экспериментальных болевых ощущений, возникновение которых происходит в результате раздражения расположенных в коже, подкожных тканях, мышцах и фасциях механоноцицепторов. Надежным методом оценки механической болевой чувствительности у человека на сегодняшний день является компьютеризированная алгометрия [4,35].

В свете вышеизложенного целью данного исследования явилась оценка корреляции степени механической болевой чувствительности и динамики концентрации белка MOR, а также уровня половых гормонов со степенью порога механического давления, механического болевого порога, порога механической болеустойчивости и динамикой концентрации MOR.

**Материал и методы.** Участниками (субъектами) исследования изначально являлись практически здоровые молодые женщины-добровольцы (n=41) в возрасте 18-25 лет. Средний возраст участниц исследования составил 21,3±3,5 лет. Исключающими из исследования критериями являлись хроническая боль, сахарный диабет, заболевания сердечно-сосудистой системы и другие нарушения, способные повлиять на восприятие боли, а также прием любых обезболивающих препаратов за 24 ч до начала исследования, высокий/низкий индекс массы тела. С целью исключения некоторых патологических состояний, способных оказывать определенное влияние на восприятие боли – различные виды анемии и тромбоцитопении, воспалительные процессы, аллергические реакции, всем участницам на каждом этапе исследования проведен общий клинический анализ крови. Перед началом исследования от всех участниц получено письменное информированное согласие. Все процедуры исследования и протокол эксперимента утверждались комиссией биоэтики Тбилисского государственного медицинского университета. Полностью учтены требования Международной организации боли по проведению исследований на людях.

На первом этапе – анкетирования, определялись рост, вес, артериальное давление и индекс массы тела (BMI) исследуемых, заполнялась анкета истории болезни (помимо общих вопросов о состоянии здоровья, перенесенных заболеваниях и наследственности, отдельным разделом анкета включала детальную информацию об ОМЦ – возраст наступления менструации, время установления регулярного цикла, продолжительность менструального цикла, длительность, болезнен-

ность менструаций, количество теряемой крови. Все дальнейшие процедуры исследования проводились в два этапа – в фолликулярной (на 5-й день ОМЦ) и лютеиновой (на 21-й день ОМЦ) фазах ОМЦ каждой участницы. С целью установления фаз ОМЦ определялись половые гормоны – фолликулостимулирующий (ФСГ), лютеинизирующий (ЛГ), пролактин и прогестерон в вышеуказанные дни, т.е дважды - на 5-й день и на 21-й день ОМЦ.

Исследование проводилось в изолированном звуко-непроходимом помещении, в максимально удобных условиях для исследуемых. Длительность каждого этапа исследования составила 1-1,5 ч.

Из 41 участниц двое выбыли из исследования в лютеиновой фазе ОМЦ вследствие острого респираторного заболевания; 9 участниц были исключены по причине несоответствия уровней половых гормонов с нормальными показателями конкретной фазы ОМЦ – концентрации ФСГ, ЛГ и прогестерона соответствовали овуляции, или же пре- или постовуляторному периоду. Таким образом, в исследовании участвовали 30 женщин.

Пробы крови в объеме 6 мл забирали в обе фазы ОМЦ из локтевой вены рано утром натощак 12 ч спустя после приема пищи, затем из крови отделяли сыворотку и немедленно замораживали при -20°C, сроком хранения не более 30 дней.

Методами иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови определяли концентрацию белка MOR, используя тест-системы «HumanOPRMEL ISAKit» (MyBioSource, Inc., USA), а также уровень ФСГ, ЛГ, пролактина и прогестерона, используя тест-системы HUMANELISA – на ИФА анализаторе HumaReader (Германия). Все вышеперечисленные анализы проводились в соответствии с инструкциями по применению для каждого набора реагентов.

Определение порога механического давления, болевого порога и порога болеустойчивости к механическим раздражителям осуществлялось посредством компьютеризованного альгометра давления (AlgoMed, Medoc Ltd, Ramat Yishai, Israel). Альгометр с плоским датчиком (контактная поверхность – 1 см<sup>2</sup>), обеспечивающий постоянно увеличивающееся (30 кПа/с) и количественно определяемое давление на основные мышцы/глубокие ткани, прикладывали к внутренней поверхности запястья. Количественная оценка определяемых параметров обеспечивалась автоматически после нажатия участником исследования клавиши пульта.

Механическая стимуляция осуществлялась в следующей последовательности: четыре пробы для определения порога механического давления, четыре пробы для определения механического болевого порога, четыре пробы для определения порога механической болеустойчивости. С целью предотвращения сенсбилизации/привыкания кожных рецепторов между последовательными стимулами соблюдались интервалы продолжительностью в 30 с. После каждой пробы

датчик передвигали для уменьшения эффекта привыкания, общая площадь стимуляции имела размер около 6x5 см. До начала исследования производили несколько пробных стимулов для исключения эффекта неожиданности. На этапе определения порога механического давления исследуемая нажимала на клавишу пульта как только ощущала давление. Для определения механического болевого порога клавишу нажимали в момент перехода ощущения механического давления в боль. На заключительном этапе для определения порога механической болеустойчивости нажимали на клавишу в момент, когда боль, вызванная давлением датчика, становилась нестерпимой.

Результаты исследования обработаны согласно нормальному распределению и представлены в виде среднего арифметического  $\pm$  стандартное квадратичное отклонение (СКО). Для оценки внутрииндивидуальных различий в уровнях гормонов, МОР, порога механического давления, механического болевого порога, порога механической болеустойчивости в фазах ОМЦ использованы методы вариационной статистики (ANOVA).

**Результаты и их обсуждение.** Анализ полученных концентраций половых гормонов 30 участниц исследования выявил статистически достоверное понижение концентрации ФСГ в лютеиновой фазе ОМЦ ( $F=3,86, p=0,054$ ). Концентрации ЛГ ( $F=4,45, p=0,039$ ) и пролактина ( $F=3,02, p=0,087$ ) в обеих фазах ОМЦ существенно не изменились. Уровень прогестерона в лютеиновой фазе значительно увеличился в сравнении с фолликулярной ( $F=4,05, p<0,001$ ), таблица. Все вышеприведенные изменения соответствуют физиологической динамике ОМЦ.

Среди всех участниц исследования отмечалось достоверное понижение порога механического давле-

ния ( $F=21,4, p<0,001$ ), механического болевого порога ( $F=12,5, p<0,001$ ) и порога механической болеустойчивости ( $F=4,9, p=0,03$ ) в лютеиновой фазе ОМЦ в сравнении с фолликулярной (Рис. 1).

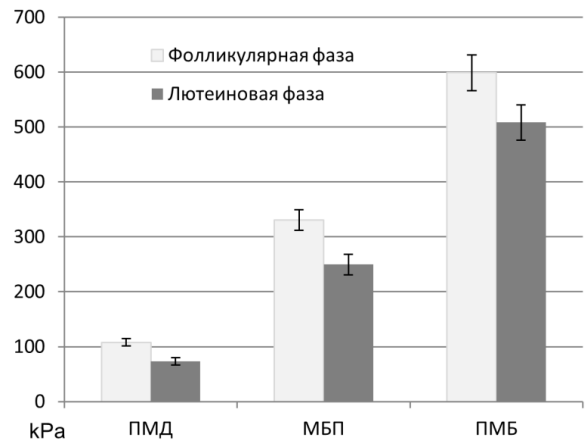


Рис. 1. Порог механического давления, механический болевой порог и порог механической болеустойчивости в фолликулярной и лютеиновой фазах ОМЦ

Что касается уровня МОР, среди 19 (63%) исследуемых выявлено статистически достоверное увеличение концентрации данного белка в лютеиновой фазе ОМЦ в сравнении с фолликулярной ( $F=12,8, p<0,001$ ). У остальных 11 (37%) отмечалась противоположная динамика – достоверное понижение концентрации МОР в лютеиновой фазе ОМЦ в сравнении с фолликулярной. ( $F=10,5, p<0,001$ ) (Рис. 2).

Анализ данных выявил взаимосвязь между динамикой изменения уровня МОР и степенью понижения порога механического давления, механического болевого порога, а также порога механической болеустой-

Таблица. Концентрации ( $\pm$ СКО) гормонов в фолликулярной и лютеиновой фазах ОМЦ

Гормоны	Фолликулярная фаза ОМЦ	Лютеиновая фаза ОМЦ
ФСГ, IU/l	5,09 $\pm$ 1,55	4,38 $\pm$ 1,02
ЛГ, IU/l	6,82 $\pm$ 1,96	5,79 $\pm$ 1,65
Пролактин, mIU/l	316,7 $\pm$ 105,9	364,1 $\pm$ 97,8
Прогестерон, ng/ml	0,76 $\pm$ 0,18	11,9 $\pm$ 4,46

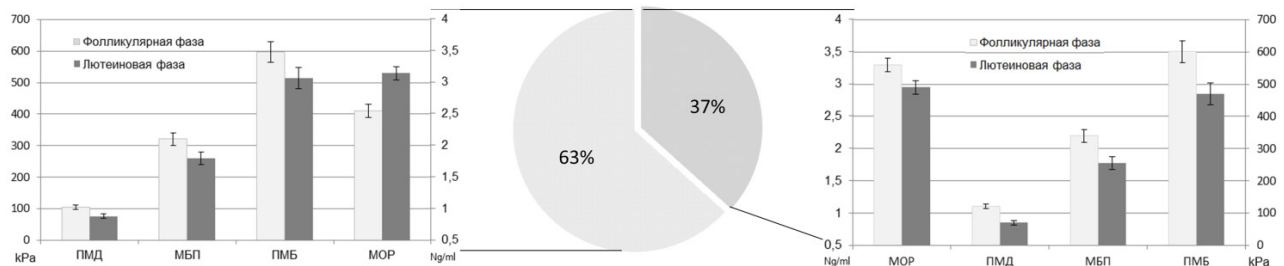


Рис. 2. Порог механического давления (ПМД), механический болевой порог (МБП) и порог механической болеустойчивости (ПМБ) в фолликулярной и лютеиновой фазах ОМЦ при увеличении (левая диаграмма) и уменьшении концентрации (правая диаграмма) МОР

чивости в фазах ОМЦ: высокая степень понижения всех трех параметров механической болевой чувствительности в лютеиновой фазе ОМЦ отмечается при уменьшении концентрации МОР в данной фазе, в то же время среди участниц, у которых выявлено повышение концентрации МОР в лютеиновой фазе ОМЦ отмечалась меньшая степень понижения параметров механической болевой чувствительности (Рис. 2).

Достоверная корреляция обнаружена между показателями порога механического давления, механического болевого порога, порога механической болеустойчивости и уровнем ФСГ в фолликулярной фазе ОМЦ (Рис. 3). Отмечается также корреляция всех вышеперечисленных параметров механической болевой чувствительности, а также концентрации МОР с уровнем прогестерона в лютеиновой фазе ОМЦ (Рис. 4).

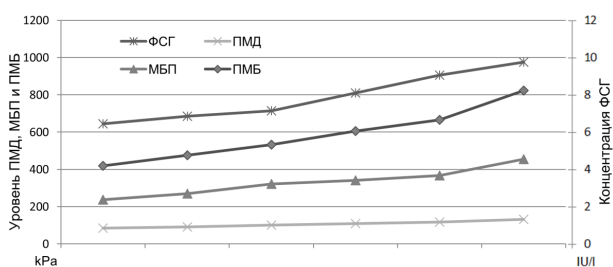


Рис. 3. Порог механического давления, механический болевой порог, порог механической болеустойчивости и концентрация ФСГ в фолликулярной фазе ОМЦ

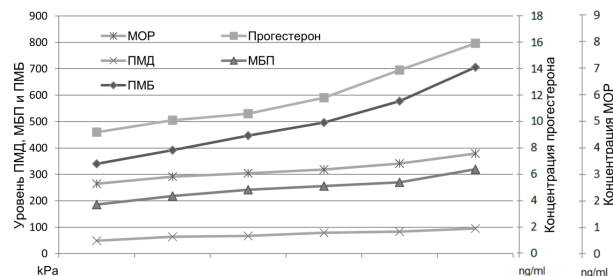


Рис. 4. Порог механического давления, механический болевой порог, порог механической болеустойчивости, концентрация прогестерона и МОР в лютеиновой фазе ОМЦ

Анализ полученных данных не выявил какой-либо взаимосвязи между уровнями ЛГ и пролактина и концентрацией МОР, либо показателями механической болевой чувствительности в обеих фазах ОМЦ. Не обнаружено взаимосвязи между уровнями данных гормонов и степенью изменения концентрации МОР, либо степенью понижения показателей механической болевой чувствительности в лютеиновой фазе ОМЦ.

В настоящем исследовании проведена оценка болевой чувствительности в фолликулярной и лютеиновой фазах ОМЦ среди практически здоровых молодых женщин с регулярным менструальным циклом. Состояние здоровья оценивалось посредством деталь-

ного сбора анамнестических данных, а также на основании результатов общего клинического анализа крови; для подтверждения регулярности ОМЦ проводилось детальное анкетирование, что касается фаз ОМЦ, с целью уточнения определялся уровень половых гормонов – ФСГ, ЛГ, пролактина и прогестерона – как в фолликулярной, так и в лютеиновой фазах.

Полученные в данном исследовании результаты относительно динамики изменения порога механического давления, механического болевого порога и порога механической болеустойчивости в фазах ОМЦ согласуются с данными метаанализа, опубликованного Riley с соавт. [36], и результатами нашего предыдущего исследования о понижении теплового болевого порога в лютеиновой фазе ОМЦ [6]. Понижение вышеперечисленных параметров также согласуется с установленным нашим предыдущим исследованием увеличением концентрации рецепторного белка *TRPV1* в лютеиновой фазе ОМЦ в сравнении с фолликулярной. *TRPV1*, представляющий собой полимодальный, мультисенсорный ноцициклический белок, обладает способностью активироваться разнообразными стимулами, главным образом теплом ( $>45^{\circ}\text{C}$ ), кислотами и эндоканнабиноидами. В последние годы рядом исследований установлена способность активации *TRPV1* также и различными механическими раздражителями [5,9,14].

Одним из возможных механизмов корреляции показателей механической болевой чувствительности и уровня прогестерона является способность последнего к увеличению экспрессии фактора роста нерва, который является положительным регулятором транскрипционной активности промоторных областей гена *TRPV1* [44], а также опосредованно через регуляцию активности белка p38 – обладает способностью к усилению экспрессии и активности многих ноцицепторных белков, в том числе *TRPV1* [16].

Изучено прямое и опосредованное влияние прогестерона на концентрацию МОР. Исследованием Yamdeu с соавт. [45] установлено повышение экспрессии МОР под влиянием белка p38, в свою очередь, активированного фактором роста нерва. Matsuzaki с соавт. и Micevych и Meisel [27,30] в своих исследованиях указывают на роль прогестерона как модулятора уровня экспрессии гена МОР. Эти данные согласуются с результатами проведенного нами исследования, в результате которого выявлена корреляция между концентрацией МОР и уровнем прогестерона в лютеиновой фазе ОМЦ.

В нашем исследовании обнаружена корреляция между показателями порога механического давления, механического болевого порога, порога механической болеустойчивости и уровнем ФСГ в фолликулярной фазе ОМЦ. В проанализированной литературе данных о влиянии ФСГ на какой-либо вид болевой чувствительности, в том числе механической, не обнаружено. Однако, существует множество данных,



указывающих на повышение механической болевой чувствительности под влиянием эстрогенов, уровень которых, в свою очередь, непосредственно регулируется ФСГ [3,10,13,15,31]. Аналогично результатам исследований Nisenblat с соавт., Kuzminskyte с соавт. и Vodnar, взаимосвязи между уровнями ЛГ и пролактина и концентрацией МОР, а также показателями механической болевой чувствительности в обеих фазах ОМЦ нами не выявлено [8,21,32].

**Выводы.** В результате проведенного исследования выявлено понижение порога механического давления, механического болевого порога, и порога механической болеустойчивости в лютеиновой фазе ОМЦ, а также взаимосвязь между степенью понижения данных параметров и изменением уровня рецепторного белка МОР. Все показатели механической болевой чувствительности коррелируют с уровнем ФСГ в фолликулярной фазе ОМЦ и с уровнем прогестерона в лютеиновой фазе ОМЦ. Взаимосвязи между показателями механической болевой чувствительности, а также концентрацией МОР и уровнями ЛГ и пролактина не обнаружено.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ader DN, et al. Cyclical mastalgia: prevalence and associated health and behavioral factors. *J Psychosom Obstet Gynaecol.* 2001;22:71–76.
2. Ahmadi S, et al. Cholestasis induced antinociception and decreased gene expression of MOR1 in rat brain. *Neuroscience.* 2015 Jan 22;284:78–86.
3. An G, et al. Estrogen rapidly enhances incisional pain of ovariectomized rats primarily through the G protein-coupled estrogen receptor. *Int J Mol Sci.* 2014 Jun 11;15(6):10479–91.
4. Angst MS, et al. Determining heat and mechanical pain threshold in inflamed skin of human subjects. *J Vis Exp.* 2009; (23): 1092.
5. Arendt-Nielsen L, et al. A randomized, double-blind, positive-controlled, 3-way cross-over human experimental pain study of a TRPV1 antagonist (V116517) in healthy volunteers and comparison with preclinical profile. *Pain.* 2016 Sep;157(9):2057–67.
6. Apkhazava M, Kvachadze I, Tsagareli M. Correlation between heat pain threshold degree and TRPV1 receptor protein level over various phases of the OMC. *Georgian Medical News.* 2018 Feb;(Issue):117–123.
7. Bartley EJ., Rhudy MS, Jamie L. Comparing Pain Sensitivity and the Nociceptive Flexion Reflex Threshold Across the Mid-follicular and Late-luteal Menstrual Phases in Healthy Women. *Clin J Pain.* 2013;29;2.
8. Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior:2012. *Peptides.* 2013 Dec;50:55–95.
9. Brenneis C, et al et al. Phenotyping the function of TRPV1-expressing sensory neurons by targeted axonal silencing. *J Neurosci.* 2013 Jan 2;33(1):315–26.
10. Craft RM, Mogil JS, Aloisi AM. Sex differences in pain and analgesia: the role of gonadal hormones. *Eur J Pain.* 2004 Oct;8(5):397–411.
11. Craft RM. Modulation of pain by estrogens. *Pain.* 2007; 132:S3–S12.
12. Cruz WS, et al. Role of steroid hormones and morphine treatment in the modulation of opioid receptor gene expression in brain structures in the female rat. *Springerplus.* 2015 Jul 16;4:355.
13. Deng C, et al. Estrogen affects neuropathic pain through upregulating N-methyl-D-aspartate acid receptor 1 expression in the dorsal root ganglion of rats. *Neural Regen Res.* 2017 Mar;12(3):464–469.
14. Feng H, Yu Z, Xu B. Roles of TRPV1 receptor in electroacupuncture regulating the jejunal motility of mice: an experimental study. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 2014 Jul;34(7):859–63.
15. Fillingim RB, Ness TJ. Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses. *Neurosci Biobehav Rev.* 2000 Jun;24(4):485–501.
16. Ji, R. R., et al. p38 MAPK activation by NGF in primary sensory neurons after inflammation increases TRPV1 levels and maintains heat hyperalgesia. *Neuron* 2002;36:57–68.
17. Klatzkin RR, Mechlin B, Girdler SS. Menstrual cycle phase does not influence gender differences in experimental pain sensitivity. *Eur J Pain.* 2010;14:77–82.
18. Kowalczyk WJ, et al. Sex differences and hormonal influences on response to mechanical pressure pain in humans. *J Pain.* 2010;11:330–342.
19. Kuba T, et al. Estradiol and progesterone differentially regulate formalin-induced nociception in ovariectomized female rats. *Horm Behav.* 2006 Apr;49(4):441–9.
20. Kundermann B, et al. Pain sensitivity in major depression and its relationship to central serotonergic function as reflected by the neuroendocrine response to clomipramine. *J Psychiatr Res.* 2009 Dec;43(16):1253–61.
21. Kuzminskyte R, et al. Increased sensitivity to supra-threshold painful stimuli in patients with multiple functional somatic symptoms (MFS). *Brain Res Bull.* 2010 Apr 29;82(1-2):135–40.
22. Laurent P, et al. The prolactin-releasing peptide antagonizes the opioid system through its receptor GPR10. *Nat Neurosci.* 2005 Dec;8(12):1735–41.
23. Lee KS, et al. Androgen receptor transcriptionally regulates  $\mu$ -opioid receptor expression in rat trigeminal ganglia. *Neuroscience.* 2016 Sep 7;331:52–61.
24. LeResche L, et al. Changes in temporomandibular pain and other symptoms across the menstrual cycle. *Pain.* 2003;106:253–261.
25. Maglakelidze G, Wynne O, Sarkar DK. A combined opiate agonist and antagonist treatment reduces prolactin secreting pituitary tumor growth. *J. Cell Commun. Signal.* 2017;11:227–232
26. Mao Y, et al. Antinociceptive Effect of Ghrelin in a Rat Model of Irritable Bowel Syndrome Involves TRPV1/Opioid Systems. *Cell Physiol Biochem.* 2017;43(2):518–530.
27. Matsuzaki S1, et al. Both GnRH agonist and continuous oral progestin treatments reduce the expression of the tyrosine kinase receptor B and mu-opioid receptor in deep infiltrating endometriosis. *Hum Reprod.* 2007 Jan;22(1):124–8.
28. Máximo MM, et al. Low-dose progestin-releasing contraceptives are associated with a higher pain threshold in healthy women. *Fertil Steril.* 2015 Nov;104(5):1182–9.
29. Micevych PE, Dewing P. Membrane-initiated estradiol signaling regulating sexual receptivity. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2011 Sep 7;2:26.
30. Micevych PE., Meisel RL. Integrating Neural Circuits Controlling Female Sexual Behavior. *Front Syst Neurosci.* 2017;11:42.
31. Naderi A, et al. Estradiol attenuates spinal cord injury-related central pain by decreasing glutamate levels in thalamic VPL nucleus in male rats. *Metab Brain Dis.* 2014 Sep;29(3):763–70.
32. Nisenblat V, et al. The association between supra-physiological levels of estradiol and response patterns to experimental pain. *Eur J Pain.* 2010 Sep;14(8):840–6.
33. Patil MJ, et al. Sex-dependent roles of prolactin and prolactin receptor in postoperative pain and hyperalgesia in mice. *Neuroscience.* 2013 Dec 3;253:132–41.
34. Pflieger M, et al. Menstrual cycle, blood pressure and ischemic pain sensitivity in women: a preliminary investigation. *Int J Psychophysiol.* 1997;27:161–166.

35. Rathleff MS et al. Adults with patellofemoral pain do not exhibit manifestations of peripheral and central sensitization when compared to healthy pain-free age and sex matched controls – An assessor blinded cross-sectional study. *PLoS One*. 2017; 12(12): e0188930.
36. Riley JL III, et al. A meta-analytic review of pain perception across the menstrual cycle. *Pain*. 1999;81:225–235.
37. Ring C, Veldhuijzen van Zanten JJ, Kavussanu M. Effects of sex, phase of the menstrual cycle and gonadal hormones on pain in healthy humans. *Biol Psychol*. 2009 Jul;81(3):189-91.
38. Shao C et al., DNMT3a methylation in neuropathic pain. *J Pain Res*. 2017; 10: 2253–2262.
39. Sherman JJ, LeResche L. Does experimental pain response vary across the menstrual cycle? A methodological review. *Am J PhysiolRegulIntegr Comp Physiol*. 2006;291:R245–256.
40. Teodorov E, et al. Treatment with steroid hormones and morphine alters general activity, sexual behavior, and opioid gene expression in female rats. *Life Sci*. 2014 May 28;104(1-2):47-54.
41. Tousignant-Laflamme Y, Marchand S. Excitatory and inhibitory pain mechanisms during the menstrual cycle in healthy women. *Pain*. 2009;146:47–55.
42. Waxman AR, et al. Progesterone rapidly recruits female-typical opioid-induced hyperalgesic mechanisms. *PhysiolBehav*. 2010 Dec 2;101(5):759-63.
43. Woolf CJ. Mu and delta opioid receptors diverge. *Cell*. 2009 Jun 12; 137(6):987-8.
44. Xue Q1, et al. Transcription of rat TRPV1 utilizes a dual promoter system that is positively regulated by nerve growth factor. *J Neurochem*. 2007 Apr;101(1):212-22.
45. Yamdeu RS et al. p38 Mitogen-activated protein kinase activation by nerve growth factor in primary sensory neurons upregulates  $\mu$ -opioid receptors to enhance opioid responsiveness toward better pain control. *Anesthesiology*. 2011 Jan;114(1):150-61.
46. Zhang M, et al. Low-Dose Cannabinoid Type 2 Receptor Agonist Attenuates Tolerance to Repeated Morphine Administration via Regulating  $\mu$ -Opioid Receptor Expression in Walker 256 Tumor-Bearing Rats. *AnesthAnalg*. 2016 Apr;122(4):1031-7.
47. Zhang Y, et al. Nerve Injury Diminishes Opioid Analgesia through Lysine Methyltransferase-mediated Transcriptional Repression of  $\mu$ -Opioid Receptors in Primary Sensory Neurons. *J Biol Chem*. 2016 Apr 15;291(16):8475-85.
48. Zhu C1, et al. Neuron-restrictive silencer factor-mediated downregulation of  $\mu$ -opioid receptor contributes to the reduced morphine analgesia in bone cancer pain. *Pain*. 2017 May;158(5):879-890.

## SUMMARY

### CORRELATION BETWEEN MECHANICAL PAIN SENSITIVITY DEGREE AND MOR PROTEIN CONCENTRATION OVER VARIOUS PHASES OF THE OVARIAN-MENSTRUAL CYCLE

**Apkhazava M., Kvachadze I., Tsagareli M., Mzhavanadze D., Chichinadze G.**

*Tbilisi State Medical University, Department of Physiology, Georgia*

The large number of studies occurred in recent decades show the effect of sex hormones on pain sensitivity and response to analgesics. The purpose of current study was to assess the correlation between the mechanical pain sensitivity degree and the dynamics of the  $\mu$ -opioid re-

ceptor protein (MOR) concentration, also to investigate the correlation of sex hormones levels with the degree of mechanical pain sensitivity and the dynamics of MOR concentration. A decreased mechanical pressure threshold, mechanical pain threshold and mechanical pain tolerance have been revealed in the luteal phase of the OMC. The study found the relation of mechanical pain sensitivity decrease degree in the luteal phase of OMC on the dynamics of MOR concentration's variation (increase /decrease). The study also revealed the correlation between the indices of mechanical pain sensitivity and the concentration of follicle-stimulating hormone in the follicular phase of OMC, as well as the correlation between the indices of mechanical pain sensitivity, progesterone and MOR concentrations in the luteal phase of OMC. The relationship between the mechanical pain sensitivity degree, also the MOR concentration and prolactin/luteinizing hormone levels was not found.

**Keywords:** sex hormones, pain sensitivity,  $\mu$ -opioid receptor protein, ovarian-menstrual cycle.

## РЕЗЮМЕ

### КОРРЕЛЯЦИЯ СТЕПЕНИ МЕХАНИЧЕСКОЙ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ БЕЛКА $\mu$ -ОПИОИДНОГО РЕЦЕПТОРА В РАЗЛИЧНЫХ ФАЗАХ ОВАРИАЛЬНО-МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА

**Абхазова М.В., Квачадзе И.Д., Цагарели М.Г., Мжаванадзе Д.Ш., Чичинадзе Г.Н.**

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент физиологии, Грузия*

Результаты множества исследований последних десятилетий показывают влияние половых гормонов на болевую чувствительность и реакцию на анальгетики. Целью данного исследования явилось определение корреляции степени механической болевой чувствительности и динамики концентрации белка  $\mu$ -опиоидного рецептора (MOR) и оценка корреляции уровней половых гормонов со степенью механической болевой чувствительности и динамикой концентрации MOR. Установлено понижение порога механического давления, механического болевого порога и порога механической болеустойчивости в лютеиновой фазе ОМЦ. Выявлена зависимость степени понижения механической болевой чувствительности в лютеиновой фазе ОМЦ от динамики изменения (увеличение/уменьшение) концентрации MOR. Установлена корреляция между показателями механической болевой чувствительности и концентрацией фолликулостимулирующего гормона в фолликулярной фазе ОМЦ, а также показателями механической болевой чувствительности, концентрациями прогестерона и

МОР в лютеиновой фазе ОМЦ. Взаимосвязи между степенью механической болевой чувствительности, а также концентрацией МОР и уровнями лютеинизирующего гормона и пролактина не обнаружено.

რეზიუმე

მექანიკური ტკივილის მგრძობელობის და  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორის ცილის კონცენტრაციის კორელაცია ოვარიულ-მენსტრუალური ციკლის სხვადასხვა ფაზაში

მ. აფხაზავა, ი. კვაჭაძე, მ. ცაგარელი, დ. მუჟანაძე, გ. ჭიჭინაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ფიზიოლოგიის დეპარტამენტი

ბოლო ათწლეულის პერიოდის მრავალი კვლევის შედეგები მიუთითებს სასქესო ჰორმონების გავლენაზე ტკივილის მგრძობელობაზე და რეაქციაზე ანალგეზიური საშუალებების მიმართ. წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა კორელაციის შეფასება მექანიკური ტკივილის მგრძობელობას და  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორის ცილის კონცენტრაციას, სასქესო

ჰორმონების დონესა და მექანიკური ზეწოლის ზღურბლის ხარისხს, მექანიკური ტკივილის ზღურბლს, მექანიკური ტკივილისადმი გამძლეობასა და  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორის ცილის კონცენტრაციას შორის.

დადგენილია მექანიკური დაწოლისადმი ზღურბლის, მექანიკური ტკივილის ზღურბლის და მექანიკური ტკივილისადმი გამძლეობის შემცირება ოვარიულ-მენსტრუალური ციკლის (ომც) ლუთეინურ ფაზაში. გამოვლენილია ლუთეინურ ფაზაში მექანიკური ტკივილის ზღურბლის შემცირების ხარისხის დამოკიდებულება  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორის ცილის კონცენტრაციის ცვლილებაზე (შემცირება/მომატება). დადგენილია კორელაცია მექანიკური ტკივილის მგრძობელობის მაჩვენებელსა და ფოლიკულმასტიმულირებელი ჰორმონის კონცენტრაციას შორის ომც-ის ფოლიკულურ ფაზაში, ასევე, მექანიკური ტკივილის მგრძობელობის მაჩვენებელს, პროგესტერონის კონცენტრაციასა და  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორის ცილის კონცენტრაციას შორის ლუთეინურ ფაზაში. დამოკიდებულება მექანიკური ტკივილის მგრძობელობის მაჩვენებელს,  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორის ცილის კონცენტრაციასა და მალუთეინიზებელი ჰორმონისა და პროლაქტინის დონეს შორის დადგენილი არ არის.

## MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF NO-SYNTASE DISTRIBUTION IN OVERACTIVE BLADDER AND STRESS URINE INCONTINENCE IN ANIMAL MODELS ADMINISTERED WITH EXPERIMENTAL PHARMACOCORRECTION REGIMENS

<sup>1</sup>Iatsyna O., <sup>2</sup>Vernygorodskiy S., <sup>1</sup>Kostyev F.

<sup>1</sup>Odessa National Medical University, Ministry of Public Health;

<sup>2</sup>Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University, Ukraine

The manifestations of overactive bladder (OAB) and stress urinary incontinence (SUI) are now referred to as lower urinary tract symptoms, caused by not only local lesions of the genitourinary tract in both sexes, but also by a number of common systemic influences involved in the regulation of all functions of the lower urinary tract, regardless of gender differentiation [5,25]. Available data suggest the widespread prevalence of OAB and SUI all over the world and, at the same time, poor scope and quality of medical care provided to patients. Despite modern diagnostic techniques applied, there is still no consensus on the etiology and pathogenesis of these diseases. Along with the neurogenic, myogenic, and urothelial models of OAB and SUI genesis, the effects of hormones and ischemia on OAB and SUI are actively studied. The role of oxidative stress and influence of nitric oxide (NO) on the functional activity of smooth myocytes is considered the

most important, perhaps, the involvement of NO and its fractions in the pathogenesis of OAB and SUI remains unclear [5,11-14].

This is the very reason why the immunohistochemical evaluation of distribution of various NO-synthase fractions in the structural elements of the bladder wall in overactivity and stress urinary incontinence prior and following the administration of Mirabegron, Spasmex, Quercetin and their combination with Testosterone and Estradiol became the objective of this work.

**Material and methods.** Experiments on reproduction of OAB model were performed on 300-g sexually mature white laboratory female rats. For this purpose, the animals were divided into two groups. The first group was a control one, where the rats were daily intraperitoneally administered 0.3 ml of sterile physiological saline for 14 days. Animals of the second, experimental group,



intraperitoneally received 0.3 ml of Homviotensin solution, containing 0.45 mg of Reserpinum once daily for 14 days for development of OAB model. The solution was obtained by grinding tablets in sterile conditions, followed by dissolving the powder in a physiological solution. We used n. puddle transection for SUI development. The reproduction of models was proven by histological studies. In the OAB group, starting from Day 14, we daily administered Mirabegron (Astelas Pharma Europe B.V.) solution, 1 ml, rough a gastric probe for 14 and 28 days (8 mg, 1/6 tablet dissolved in 1 ml of distilled water); Quertin (PAT NVTs Borshchahivskiy KhFZ) - daily through the gastric probe for 14 and 28 days, 1 ml of solution containing Quercetin, 10 mg (1/4 tablet dissolved in 1 ml of distilled water); Spasmex (Dr.R.Pfleger GmbH) - intraperitoneally daily 1 ml of the solution containing 0.4 mg of Trosipium Chloride (1/4 tablet per 10 ml of physiological saline); Testosterone Propionate (PAT Farmak) – intramuscularly daily 0.05 ml of finished solution containing 1 mg Testosterone for 14 and 28 days, and Divigel (Orion Corporation, Finland) – daily application of 0.2 g of the gel on the shaved area of the back, containing 0.2 mg Estradiol for 14 and 28 days; the doses did not change in combinations of medicines. Quercetin and its combination with hormones in the aforementioned doses were administered in the SUI group. In total, 460 rats were used, 20 experimental animals in each group.

When working with laboratory animals, we adhered to the requirements of the “Scientific and Practical Recommendations for Management of Laboratory Animals” of the State Pharmacological Center of the Ministry of Health of Ukraine (Minutes No. 8 dated June 22, 2012).

For histological studies, on Days 14 and 28, the animals were withdrawn from the experiment by overdose of 10% sodium thiopental solution, followed by removal of the bladder and fixing it in a 10% neutral formalin solution for 24 hours, dehydration the material in alcohol of growing concentration, clearing in chloroform, and sealing in paraffin. 5-7  $\mu\text{m}$ -thick sections were stained with hematoxylin-eosin and picrofuchsin under van Gieson, and with resorcin-fuchsin under Weighert methods [1]. Immunohistochemical studies were conducted by arranging an indirect immunoperoxidase reaction with monoclonal antibodies (MCA) in endothelial, inducible and fractions neuronal NO-synthase (eNOS, iNOS and nNOS, respectively) produced by Thermo Fisher scientific. The reaction was visualized using UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen kit (Thermo scientific). The immunohistochemical staining was assessed by semiquantitative method, under which 4 categories were isolated: 0 (-) - negative reaction (<5% of cells were stained), 1 (+) - weak staining (10-30% of positively stained cells), 2 (++) - a moderately pronounced reaction (31-60% of positively stained cell), and 3 (+++) - intense staining (> 60% of cells or almost all cells of the epithelium were

positively stained). [21,26] The expression coefficient (EC) was calculated after each observation using the formula:  $EC = \Sigma (i \times v)/100$ , where  $i$  - the intensity of staining in points (from 0 to 3),  $v$  - the percentage of stained cells (from 0 to 100% with the most pronounced reaction in 10 fields of view at x400) for each value of  $i$ . [9, 22]. The data was statistically processed using the Microsoft Office Excel 2007 program. The differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ . Bladder parts obtained from animals before treatment served as controls. The content of cellular elements was determined proceeding from a unit of conditional space (1mm<sup>2</sup>). The histological preparations were microscoped and photographed using an optical microscope OLIMPUS BX 41 with magnifications of 40, 100, 200 and 400 times.

**Results and their discussions. Overactive bladder.** Following a 14-day administration of Homviotensin, an immunohistochemical assay revealed the emergence of an inducible fraction (iNOS) in interstitial cells located between the muscle fibers and in the subepithelial layer of the bladder wall, and in the vascular endothelial cells and perinuclear cytoplasm segments of the transitional epithelium of the mucous membrane (Fig. 1). No expression of iNOS in the control group was determined. Along with this, there was a statistically significant eNOS expression drop in the endothelial cells of the bladder wall compared to the control group ( $p < 0.001$ ). The level of expression of the neuronal fraction of NO-synthase was also low in the nerve cells compared to the control group and was associated with degenerative changes in the nerve fibers.

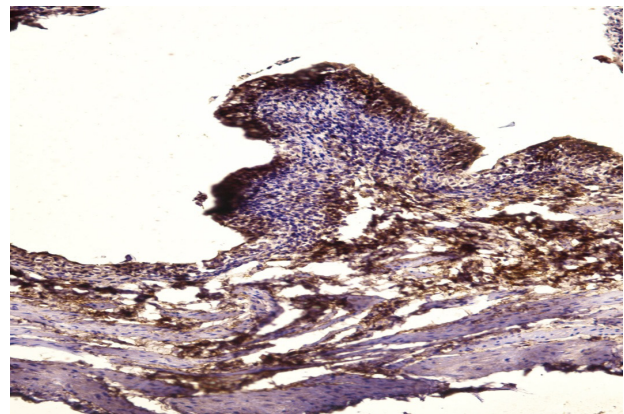


Fig. 1. Strong expression of inducible fraction of NO-synthase (iNOS) in interstitial cells of bladder muscle vessels and the transient epithelium of the mucous membrane. Day 14, OAB. Immunohistochemical marking - iNOS, x 100

Compared to OAB, an increase in expression of endothelial fraction (eNOS) was observed in the Mirabegron pharmaco-correction group, with the highest expression indexes obtained in its combination with hormonal Testosterone -  $0.87 \pm 0.03$ , and Testosterone with Estradiol -  $0.89 \pm 0.04$ , respectively (Table 1).



Table 1. Intensity of expression endothelial (eNOS), inducible (iNOS) and neuronal (nNOS) NO-synthase fractions in the bladder wall at disorders of urodynamics of the lower urinary tract on Day 14 of the experiment

Animal groups\pharmacorrection regi- mens		eNOS	iNOS		nNOS	
		EN	EP	EN	IC	N
Control group		0.93±0.11	-	-	-	1.03±0.33
OAB		0.12±0.01 <sup>†</sup>	0.95±0.52	1.06±0.03	2.55±0.95 <sup>†</sup>	0.13±0.01 <sup>†</sup>
SUI		0.38±0.07 <sup>†</sup>	0.24±0.01	-	1.04±0.11	0.18±0.09
Pharmacorrection of OAB	Mirabegron	0.75±0.07*	-	-	0.81±0.02*	0.46±0.07*
	Spasmex	0.14±0.006 <sup>†</sup>	0.79±0.02	0.91±0.03	1.99±0.01	0.15±0.006 <sup>†</sup>
	Quercetin	0.69±0.11*	-	-	0.84±0.02*	0.55±0.04*
	Mirabegron+Testosterone	0.83±0.03*	-	-	0.31±0.03*	0.71±0.02*
	Mirabegron+Estradiol	0.45±0.01*	-	-	0.48±0.03*	0.53±0.02*
	Mirabegron+Testosterone+Estradiol	0.86±0.01*	-	-	0.3±0.02*	0.82±0.03*
	Spasmex+Testosterone	0.24±0.01 <sup>∇</sup>	0.35±0.04	0.59±0.01*	1.29±0.09*	0.19±0.009 <sup>∇</sup>
	Spasmex+Estradiol	0.18±0.008 <sup>∇</sup>	0.62±0.02	0.75±0.02	2.12±0.05 <sup>∇</sup>	0.16±0.006 <sup>∇</sup>
	Spasmex+ Testosterone+Estradiol	0.26±0.01*	0.32±0.03	0.5±0.022	1.25±0.1	0.22±0.01*
	Quercetin+Testosterone	0.85±0.01*	-	-	0.37±0.04*	0.74±0.01*
	Quercetin+ Estradiol	0.7±0.09*	-	-	0.76±0.0*	0.6±0.01*
	Quercetin+ Testosterone+Estradiol	0.8±0.02*	-	-	0.39±0.03*	0.74±0.02*
	Testosterone	0.5±0.01*	-	-	0.4±0.03*	0.59±0.08*
	Estradiol	0.34±0.01*	-	-	0.65±0.03*	0.25±0.01*
Testosterone+Estradiol	0.61±0.01*	-	-	0.39±0.03*	0.39±0.02*	
Pharmacorrec- tion of SUI	Quercetin	0.58±0.01 <sup>^</sup>	-	-	0.56±0.02	0.37±0.04
	Testosterone	0.51±0.02 <sup>^</sup>	-	-	0.54±0.02 <sup>^</sup>	0.35±0.03 <sup>^</sup>
	Estradiol	0.43±0.02 <sup>^</sup>	-	-	0.68±0.02 <sup>^</sup>	0.29±0.01 <sup>^</sup>
	Testosterone+Estradiol	0.5±0.03 <sup>^</sup>	-	-	0.59±0.02 <sup>^</sup>	0.36±0.01 <sup>^</sup>
	Quercetin+Testosterone+ Estradiol	0.65±0.02 <sup>^</sup>	-	-	0.45±0.02 <sup>^</sup>	0.58±0.01 <sup>^</sup>

note: OAB - overactive bladder; SUI - stress urinary incontinence, eNOs - endothelial fraction of NO-synthase, iNOs - inducible fraction of NO-synthase, NO - nitrous oxide, EP – epithelium, EN – endothelium, IC – interstitial cells, N – neurocytes. - no expression; \* -  $p < 0.001$  compared to OAB; <sup>†</sup> -  $p < 0.001$  compared to control; <sup>^</sup> -  $p < 0.001$  compared to SUI; <sup>∇</sup> -  $p > 0.05$  compared to OAB

Following the OAB Spasmex treatment, on Day 14 of the experiment we did not find any significant difference in expression of eNOS, iNOS, and nNOS in the structural elements of the bladder wall compared to the experimental animal group receiving Homviotensin as a sole therapy ( $p > 0.05$ , Table 1), while its combination with Testosterone ( $p < 0.001$ , Tables 1, 2) and Testosterone + Estradiol presented a slight decrease in iNOS expression compared to OAB.

In the groups Mirabegron+OAB, Quercetin+OAB and their combination with hormonal medicines, we observed a significant grow of expression of endothelial and neuronal NO-synthase fractions (Table 1) already at this observation phase. It should be noted that we observed the highest indicators in the group of animals receiving the combination of Quercetin+Testosterone. Along with this, there was a statistically significant reduction of iNO expression noted both in a group of Quercetin and its

combination with hormones ( $p < 0.001$ ), and in a group of Mirabegron in combination with hormonal medicines (Table 1).

In the event of sole administration of hormonal medicines, at this research phase, the best indicators characterized by a decrease in the marking of iNOS and an increase in the expression of eNOS and iNOS were obtained in Testosterone and Testosterone+Estradiol groups compared to Estradiol-alone group (Table 1).

On Day 28 of the experiment, we observed weak labeling of both inducible and neuronal and endothelial NO-synthase fractions (Figure 2) in the OAB group without pharmacological correction, which was accompanied by sclerotic changes in the hypertrophied bladder wall and mucosal atrophy. At the same time, iNOS labeling in endothelial cells and epithelium was weak in intensity, yet a fairly high level of expression remained in interstitial cells (Table 2).

Table 2. Intensity of expression of endothelial (eNOS), inducible (iNOS) and neuronal (nNOS) NO-synthase fractions in the bladder wall at disorders of urodynamics of the lower urinary tract on Day 28 of the experiment

Animal groups/ pharmacorection regimens		eNOS	iNOS			nNOS
		EN	EP	EN	IC	N
Control group		0.99±0.03	-	-	-	1.04±0.03
OAB		0.13±0.01 <sup>†</sup>	0.9±0.04	0.89±0.03	1.9±0.02	0.15±0.01 <sup>†</sup>
SUI		0.25±0.01 <sup>†</sup>	-	-	0.88±0.02	0.11±0.006 <sup>†</sup>
Pharmacorection of OAB	Mirabegron	0.79±0.03*	-	-	0.71±0.02	0.66±0.03*
	Spasmex	0.13±0.01	-	-	1.5±0.15	0.12±0.008
	Quercetin	0.72±0.03*	-	-	-	0.72±0.03*
	Mirabegron+Testosterone	0.87±0.03*	-	-	-	0.83±0.02*
	Mirabegron+Estradiol	0.59±0.02*	-	-	-	0.65±0.03*
	Mirabegron+Testosterone+Estradiol	0.89±0.04*	-	-	-	0.89±0.008*
	Spasmex+Testosterone	0.26±0.01*	-	-	0.95 ±0.04*	0.16±0.009
	Spasmex+Estradiol	0.15±0.01 <sup>∨</sup>	-	-	1.18±0.08	0.17±0.006 <sup>∨</sup>
	Spasmex+ Testosterone+Estradiol	0.29±0.02*	-	-	1.21±0.1	0.2±0.01 <sup>∨</sup>
	Quercetin+Testosterone	0.88±0.03*	-	-	-	0.9±0.02*
	Quercetin+ Estradiol	0.71±0.01*	-	-	-	0.69±0.02*
	Quercetin+ Testosterone+Estradiol	0.96±0.03*	-	-	-	0.98±0.05*
	Testosterone	0.65±0.02*	-	-	-	0.63±0.03*
	Estradiol	0.43±0.03*	-	-	0.11±0.08	0.27±0.006*
	Testosterone+Estradiol	0.63±0.02*	-	-	-	0.57±0.02*
Pharmacorection of SUI	Quercetin	0.62±0.02 <sup>^</sup>	-	-	-	0.59±0.02 <sup>^</sup>
	Testosterone	0.59±0.02	-	-	-	0.4±0.01 <sup>^</sup>
	Estradiol	0.49±0.02 <sup>^</sup>	-	-	0.15±0.008	0.3±0.01
	Testosterone+Estradiol	0.57±0.03 <sup>^</sup>	-	-	-	0.52±0.01 <sup>^</sup>
	Quercetin+Testosterone+ Estradiol	0.8±0.02 <sup>^</sup>	-	-	-	0.7±0.02 <sup>^</sup>

note: OAB - overactive bladder; SUI - stress urinary incontinence, eNOs - endothelial fraction of NO-synthase, iNOs - inducible fraction of NO-synthase, NO - nitrous oxide, EP – epithelium, EN – endothelium, IC – interstitial cells, N – neurocytes. - no expression; \* -  $p < 0.001$  compared to OAB; <sup>†</sup> -  $p < 0.001$  compared to control; <sup>^</sup> -  $p < 0.001$  compared to SUI; <sup>∨</sup> -  $p > 0.05$  compared to OAB

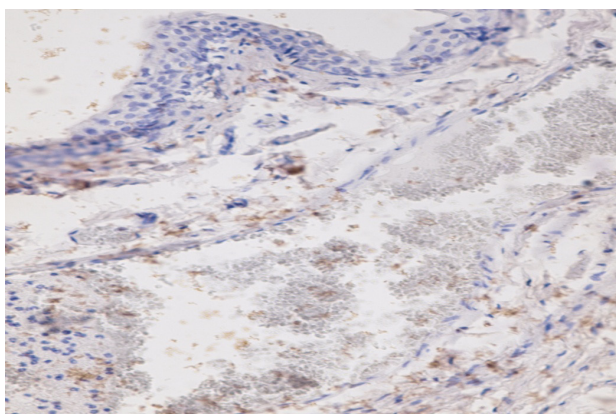


Fig. 2. Low expression of endothelial fraction of NO-synthase (eNOs) in endothelial cells of the subepithelial vessels and bladder muscle vessels. Day 28, OAB. Immunohistochemical marking - eNOs, x 200

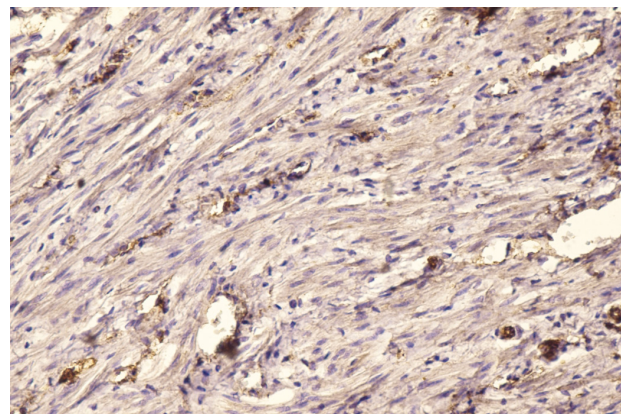


Fig. 3. Moderate expression of endothelial fraction of NO-synthase (eNOs) in endothelial cells of bladder muscle vessels. Day 28, Quercetin+Testosterone+Estradiol. Immunohistochemical marking - eNOs, x 400

It's worthy to emphasize that compared to Mirabegron and Quercetin in the experimental animals receiving Spasmex, dystrophic changes in muscle and nerve fibers were progressing and accompanied by muscle sclerosis.

The eNOS expression coefficient in the event of administration of Mirabegron ( $0.87\pm 0.03$ ,  $0.59\pm 0.02$ ,  $0.89\pm 0.04$ ), Quercetin ( $0.88\pm 0.03$ ,  $0.71\pm 0.01$ ,  $0.96\pm 0.03$ ) and their combination with Testosterone and Estradiol was significantly increasing ( $p < 0.001$ ) at this study period compared to OAB ( $0.13\pm 0.01$ ,  $p < 0.001$ ); the same trend was observed also in the analysis of expression of NO-synthase neuronal isoform (Table 2). The NO inducible fraction was not determined in the above groups in the given period of the experiment.

*Stress urinary incontinence following n. pudendus ligation.* The immunohistochemical evaluation of iNOS expression of the bladder wall in the animal models subjected to n. pudendus ligation presented with the similar results compared to OAB group in terms of expression of the inducible NO-synthase fractions in interstitial cells of the bladder muscle wall, but in contrast to OAB, no expression of iNOS was registered in the endothelial cells and the transitional epithelium of the mucosa. The main morphological manifestation was atrophic changes in the bladder wall and a decrease in eNOS and nNOS expression. As we can see from Table 2, the expression coefficient of eNOS and nNOS was statistically significantly lower than  $0.12\pm 0.01$  and  $0.13\pm 0.01$  ( $p < 0.001$ ) compared to the control group ( $0.93\pm 0.11$  and  $1.03\pm 0.33$ , respectively).

On Day 14 of Quercetin and Mirabegron administration in combination with hormones in SUI+Quercetin+Testosterone+Estradiol and SUI+Mirabegron+Testosterone+Estradiol groups, when expression of iNOS was low and determined only in isolated interstitial cells of the muscle layer, sometimes absolutely absent, the quantitative indicators of eNOS and nNOS expression in endothelial cells and nerve cells of the bladder wall were improving (Table 1).

On Day 28 of the experiment, the atrophic changes in the bladder wall were accompanied with sclerotic changes with a predominantly diffuse growth of collagen fibers between smooth myocytes in the group of experimental animals with n.pudendus ligation. The inducible fraction of NO-synthase was virtually absent in the group of Mirabegron, Quercetin and their combination with hormones. The expression of eNOS and nNOS was approaching the control group by the intensity (Table 2).

When using hormones at this period of the study, Testosterone and Testosterone in combination with Estradiol demonstrated better efficacy in reducing the expression of iNOS in interstitial muscle cells and subepithelial units of the own plate of the bladder wall, compared with the group receiving Estradiol alone (Table 2). Expression of eNO and nNOs was growing predominantly in Testosterone and Testosterone+Estradiol groups compared to n.pudendus-ligated animals not subjected to pharmacological correction.

The data on reduction of endothelial and neuronal isoforms and increase of the inducible fraction of nitric oxide in

OAB suggest an intense formation of toxic NO metabolites. According to literature [2,4,8], both excessive and lacking nitric oxide may have a toxic effect on cells, associated with both direct action on iron-containing enzymes and the formation of a strong oxidant, a highly reactive and toxic free radical peroxy nitrite compound. In turn, inhibition of mitochondrial enzymes leads to a decrease in ATP production, while peroxy nitrite can directly damage DNA that activates protective mechanisms with subsequent stimulation of Poly-(ADP-Ribose) synthetase, reduces ATP level, and may lead to a cell death due to DNA damage. [8]. Continuous imbalance in the NO-ergic system leads to a disturbance of adaptive-compensatory mechanisms, which manifests in changes in NO-synthase activity, disturbance of the functional state and loss of integrity of the morphological structure of the bladder wall. In our study, we established a reduction in expression of NO-synthase endothelial isoform and amplified expression of the inducible isoform of the enzyme in interstitial cells surrounding smooth myocytes in OAB and SUI models, which indirectly suggested the intense formation of toxic products of nitric oxide metabolism. Therefore, according to our research and other authors' data, interstitial cells are the main target of NO in detrusor at OAB and SUI [8,23].

Endogenous formation of NO, as a vasodilator, is very important for maintaining vascular microcirculation and the integrity of structural components of the bladder wall. The mechanism for increasing the level of NO-synthase endothelial isoform in the endothelium of blood vessels under Quercetin administration may be associated with a decrease in its inactivation by free radicals, which proves antioxidant and anti-ischemic properties of Quercetin. Under normal conditions, Quercetin activates HIF-1 $\alpha$  in various cell cultures, increases expression of the vascular endothelial growth factor in them and GLUT-1 glucose conveyor. Quercetin blocks asparaginyl hydroxylase, the factor that inhibits HIF, which inactivates HIF-1 $\alpha$  under normal conditions [24]. In addition, the antioxidant activity of flavonoids is preconditioned by inhibition of tyrosine phosphorylation and activation of phospholipase D in activated neutrophils, myeloperoxidase, and binding transitional metals involved in degradation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> into a hydroxyl radical. Formation of flavonoid complexes with metal ions is also possible, thus limiting their access to fatty acids of cell membrane phospholipids. In our study, the administration of Quercetin led to a reduction of oxidative stress both in OAB and SUI, that was quite in agreement with the conclusions of other researchers [3,7].

In addition, in our previous study, we established a significant suppression of potassium channels in OAB models and their recovery following Quercetin administration [10]. Comparing these findings with the present results, we can predict that one of the mechanisms for restoring potassium channels under Quercetin administration may be growing expression of eNOS followed by activation of protein kinase G, which leads to a decrease of Ca<sup>2+</sup> by inhibiting phospholipase C and formation of inositol 1,4,5-trisphosphate. These transmitters also stimulate relaxation by activating potassium



channels (K<sup>+</sup>channels), which is in line with the data of other authors, for example, hydrogen sulfide activates protein kinase G, which leads to relaxation of muscle fibers by activating ATP-dependent K<sup>+</sup> channels [18,19]. The relaxing effect of NO-synthase is closely related to activation of soluble guanylate-cyclase and accumulation of cyclic guanosinemonophosphate (cGMP). The excessive concentration of GMP activates the cGMP-dependent protein kinase and ATPase, involved in dephosphorylation of light myosin chains, thus leading to the release of calcium from muscle cells and, as a result, to vasodilation [6].

It should be noted that along with the sole administration of Quercetin and Mirabegron, a positive effect was also achieved by their combination with hormones, especially with Testosterone. Moreover, a statistically significant increase in eNOS was achieved in Testosterone group both in OAB and in SUI compared to sole administration of Estradiol. As we know, the deficiency of Testosterone and nitric oxide is manifested by endothelial dysfunction (endothelial-dependent vasodilatation distortion resulting from poor bioactivity of nitric oxide, its excessive degradation, disorders in the system of antioxidant protection, or disturbance of endothelial NO-synthase expression) [15, 16]. Reduced Testosterone levels or Testosterone aromatization in Estradiol may result in a disturbance of endothelial NO-synthase function and NO deficiency [16]. Sex hormones are directly involved in the regulation of NO-synthase activity (blood circulation, innervation, oxygen supply of tissues, metabolism and energy metabolism; endothelium-dependent vasodilatation; endothelium-independent neuronal-mediated vasodilatation) [5]. One of the common mechanisms of such universal effect of androgens on the lower urinary tract may be involvement of Testosterone in activation of NO-synthases and L-arginases, which are proactive in the synthesis of nitric oxide in both sexes [20]. According to our study, animal groups of combination of Quercetin with Testosterone and Quercetin with Testosterone and Estradiol demonstrated an increase in the synthesis of NO-synthase endothelial fraction throughout the experiment, thus confirming the involvement of hormones in activation of eNOS.

**Conclusions.** 1. The immunohistochemical analysis of expression of inducible, endothelial and neuronal NO-synthase fractions under experimental overactive urinary bladder and stress urinary incontinence has confirmed its involvement in the pathogenetic mechanisms of urodynamic disorders of the lower urinary tract. According to our study, the main cells that produce NO-synthase and are involved in the contractile activity of smooth myocytes are interstitial cells of the bladder muscle wall.

2. The group of experimental animal models receiving Spasmex did not present any reliable evidence of its effect on expression of NO-synthase isoforms in OAB, but a combination of the medicine with Testosterone presented with a statistically significant ( $p < 0.001$ ) decrease of iNOS expression in the bladder interstitial cells.

3. Sole Mirabegron therapy and especially its combination with Testosterone and Estradiol demonstrated a

positive trend of eNOS and nNOS immunohistochemical expression indices and a statistically significant decrease of iNOS expression ( $p < 0.001$ ) in interstitial bladder wall cells in OAB and SUI.

4. The results of the study proved a positive effect of Quercetin for treatment of experimental OAB and SUI, its high efficacy in combination with Testosterone and Estradiol confirmed by a significant increase and stabilization of eNOS and nNOS expression and disappearance of iNOS expression in interstitial cells of the bladder wall.

Taking into account the leading role of nitric oxide in the pathogenesis of OAB and SUI, further study of distribution of endothelial, neuronal and inducible NO-synthase fractions in the structural elements of the bladder wall opens the prospects for changing existing perceptions of the mechanism of urodynamic disorders and the development of new medicines for correction and optimization of the treatment policy.

## REFERENCES

1. Автандилов ПТ. Основы патологоанатомической практики. Руководство (издание третье дополненное). М.: Российская медицинская академия последипломного образования; 2007. 480.
2. Галинский АА, Ошмянская НЮ, Макачук ВА, Севереновская ЕВ, Руденко АИ. Морфологические изменения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки у крыс при дисбалансе оксида азота // *Світ медицини та біології* 2014; 4(46): 84-91.
3. Глебов АН, Глебов МА. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма при окислительном стрессе в условиях введения кверцетина и селективного ингибитора NO-синтазы // *Военная медицина*. 2009; 3:125-128.
4. Звягинцева ТД, Гриднева СВ. Сосудистый эндотелий в норме и при заболеваниях пищевого канала // *Сучасна гастроентерологія* 2005; 2 (22): 51-55.
5. Калинин СЮ, Тюзиков ИА, Греков ЕА, Апетов СС, Ворслов ЛЮ, Тишова ЮА. Андрогены и симптомы нарушения функций нижних мочевых путей: исключительно мужская гендерность или нерешенная проблема обоих полов? // *Экспериментальная и клиническая урология*. 2013; 4: 40-48.
6. Крилова ОО. Роль NO в развитии хронического панкреатиту // *Буковинський медичний вісник* 2011; 15(2): 218–221.
7. Левченкова ОС, Новиков ВЕ. Возможности фармакологического прекодиционирования // *Вестник Российской академии медицинских наук* 2016; 71(1): 16-24.
8. Сосунов А.А. Нервный гребень и его нейтральные производные // *Соросовский образовательный журнал* 1999 №05
9. Шамугия НМ, Сонова ММ, Адамян АВ, Зайратьянц О.В., Логинова О.Н., Ласкевич А.В. и соавт. Контроль кровотечения, уменьшение размеров миоматозных узлов и обратимые изменения эндометрия у больных с симптомной миомой матки при терапии улипристала ацетатом // *Проблемы репродукции*. 2014; 6: 54-60.
10. Яцина ОІ, Мельник МІ, Паршиков ОВ, Костев ФІ, Фурманов Ю.О., Соловйов А І. Ліпосомальний кверцетин нормалізує калієву провідність в ізольованих клітинах гладеньких м'язів гіперактивного сечового міхура щурів // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016; 6(51): 83-88.
11. Aurora Valeri, Keith L Brain, John S Young, Giampietro Sgaragli, Federica Pessina. Effects of 17 $\beta$ -oestradiol on rat detrusor smooth muscle contractility // *Exp Physiol*. 2009; 94(7): 834–846.
12. Azadzi KM. Effects of chronic ischemia on bladder structure and function // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003; 539 (Part A): 271-280.



13. Azadzoi KM, Radisavkjevic ZM, Siroku MB Effect of ischemia on tachykinin-containing nerves and neurokinin receptors in the rabbit bladder // *Urology*. 2008; 71, (5): 979-983.
14. Azadzoi KM, Yalla SV, Siroku MB. Oxidative stress and neurodegeneration in the ischemic overactive bladder // *J Urol*. 2007; 178(2): 710-715.
15. Barry MJ, Cockett AT, Holtgrewe H.L, McConnell JD, Sihelnik SA, Winfield HN. Relationship of symptoms of prostatism to commonly used physiological and anatomical measures of the severity of benign prostatic hyperplasia. // *J Urol*. 1993; 150(2): 351-358.
16. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress // *Circ Res* 2000; 87(10): 840-844.
17. Cho JJ, Cadet P, Salamon E, Mantione K, Stefano GB. The non-genomic protective effects of estrogen on the male cardiovascular system: clinical and therapeutic implications in aging men // *Med Sci Monit* 2003; 9(3): 63-68.
18. Fernandes VS, Ribeiro AS, Barahona MV et al. Hydrogen sulfide mediated inhibitory neurotransmission to the pig bladder neck: role of KATP channels, sensory nerves and calcium signaling // *Journal of Urology* 190(2): 746-756.
19. Hirata M, Kohse KP, Chang CH, Ikebe T, Murad F. Mechanism of cyclic GMP inhibition of inositol phosphate formation in rat aorta segments and cultured bovine aortic smooth muscle cells // *The Journal of Biological Chemistry* 265(3): 1268-1273.
20. Ho MH, Bhatia NN, Bhasin S. Anabolic effects of androgens on muscles of female pelvic floor and lower urinary tract // *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16(5): 405-409.
21. Kai H, Ito M, Kitadai Y, Tanaka S, Haruma K, Chayama K. Chronic gastritis with expression of inducible nitric oxide synthase is associated with high expression of interleukin-6 and hypergastrinaemia // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2004. 19(12): 1309-1314.
22. Kinsel L.B., Szabo E., Greene G.L. et al. Immunocytochemical analysis of estrogen receptors as a predictor of prognosis in breast cancer patients: comparison with quantitative biochemical methods // *Cancer Res* 1989; 49: 4: 1052-1056.
23. Mumtaz FH, Khan MA, Thompson CS, Morgan RJ, Mikhailidis DP Nitric oxide in the lower urinary tract: physiological and pathological implications // *BJU Int*. 2000; 85(5):567-78.
24. Nagle DG, Zhou YD. Natural Product-Derived Small Molecule Activators of Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1) // *Curr Pharm Des* 2006; 12(21): 2673-2688.
25. Oelke M, Bachmann A, Descalzeaud A, Emberton M, Gravas S, Michel MC, et al. Guidelines on the Management of Male Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS), incl. Benign Prostatic Obstruction (BPO). EAU. 2013; 75 p.
26. Sade K, Schwartz IF, Etkin S, Schwartzenberg S, Levo Y, Kivity S Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase in a Mouse Model of Anaphylaxis // *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007. 17(6): 379-385.

## SUMMARY

### MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF NO-SYNTASE DISTRIBUTION IN OVERACTIVE BLADDER AND STRESS URINE INCONTINENCE IN ANIMAL MODELS ADMINISTERED WITH EXPERIMENTAL PHARMACOCORRECTION REGIMENS

<sup>1</sup>Iatsyna O., <sup>2</sup>Vernygorodskiy S., <sup>1</sup>Kostyev F.

<sup>1</sup>Odessa National Medical University, Ministry of Public Health; <sup>2</sup>Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University, Ukraine

The objective of the study was immunohistochemical evaluation of distribution of various NO synthase frac-

tions in the structural elements of the bladder wall under stress urinary incontinence and its overactivity prior and post Mirabegron, Spasmex, Quercetin therapies and their combinations with Testosterone and Estradiol.

Using the immunohistochemical method, we studied the expression of the main fractions of NO synthase in experimental models of hyperactive bladder (OAB) and stress urinary incontinence (SUI). We found that OAB and SUI were characterized by emergence of expression of the inducible fraction (iNOS) predominantly in the interstitial cells of the muscular layer of the bladder and reduced expression of endothelial (eNOS) and neuronal (nNOs) NO synthase fractions. In contrast to Spasmex, Mirabegron and Quercetin in combination with Testosterone and Estradiol contributed to stabilization of eNOS and nNOs expression already at early observation phases, and reduced the level of iNOS expression with its further disappearance in the later observation period.

**Keywords:** overactive bladder, stress urinary incontinence, immunohistochemical evaluation, NO synthase, pharmacocorrection.

## РЕЗЮМЕ

### МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ NO-СИНТАЗЫ ПРИ ГИПЕРАКТИВНОМ МОЧЕВОМ ПУЗЫРЕ И СТРЕССОВОМ НЕДЕРЖАНИИ МОЧИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАРМАКОКОРЕКЦИИ

<sup>1</sup>Яцина А.И., <sup>2</sup>Вернигородский С.В., <sup>1</sup>Костев Ф.И.

<sup>1</sup>Одесский Национальный медицинский университет Министерства здравоохранения Украины; <sup>2</sup>Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Украина

Цель исследования – иммуногистохимическая оценка распределения различных фракций NO-синтазы в структурных элементах стенки мочевого пузыря при стрессовом недержании мочи и его гиперактивности до и после лечения мирабегроном, спазмексом, кверцетином и их комбинацией с тестостероном и эстрадиолом.

На экспериментальных моделях гиперактивного мочевого пузыря (ГАМП) и стрессового недержания мочи (СНМ) с помощью иммуногистохимического метода изучена экспрессия основных фракций NO-синтазы. Установлено, что при ГАМП и СНМ появляется экспрессия индуцибельной фракции (iNOS) преимущественно в интерстициальных клетках мышечного слоя мочевого пузыря, снижается экспрессия эндотелиальной (eNOS) нейрональной (nNOs) фракций NO-синтазы. Мирабегрон и кверцетин в сочетании с тестостероном и эстрадиолом в отличие от спазмекса способствуют стабилизации экспрессии eNOS

и nNOs уже на ранних сроках наблюдения, а также снижают уровень экспрессии iNOS с ее исчезновением на поздних сроках наблюдения.

Принимая во внимание ведущую роль оксида азота в патогенезе ГАМП и СНМ, дальнейшее изучение распределения эндотелиальных, нейронных и индуцибельных фракций NO-синтазы в структурных элементах стенки мочевого пузыря открывает перспективы для изменения существующих представлений о механизме уродинамических расстройств и разработки новых лекарств для коррекции и оптимизации лечебной тактики.

### რეზიუმე

NO-სინთაზას განაწილების მორფოლოგიური შეფასება ჰიპერაქტიური შარდის ბუშტის და შარდის სტრესული შეუკავებლობის დროს ფარმაკოკორექციის ზემოქმედებისას ექსპერიმენტში

<sup>1</sup>ა. იაცინა, <sup>2</sup>ს. ვერნიგოროდსკი, <sup>1</sup>ფ. კოსტევი

<sup>1</sup>ოდესის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ვინიცას ნ. პიროგოვის სახელობის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა NO-სინთაზას სხვადასხვა ფრაქციის განაწილების იმუნოჰისტოქიმიური შეფასება შარდის ბუშტის კედლის სტრუქტურულ ელემენტებში შარდის სტრესული შეუკავებლობის და მისი ჰიპერაქტიურობის დროს მირაბეგრონიტ, სპაზმექსით, კვერცვტინით

და ტესტოსტერონთან და ესტრადიოლთან მათი კომბინაციით მკურნალობამდე და მკურნალობის შედეგად.

ჰიპერაქტიური შარდის ბუშტის (ჰაშბ) და შარდის სტრესული შეუკავებლობის (შსშ) ექსპერიმენტულ მოდელებზე იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით შესწავლილია NO-სინთაზას ძირითადი ფრაქციების ექსპრესია. დადგენილია, რომ ჰაშბ-ის და შსშ-ის დროს ვლინდება ინდუციბელური ფრაქციის (iNOS) ექსპრესია უპირატესად შარდის ბუშტის კუნთოვანი შრის ინტერსტიციულ უჯრედებში, მცირდება NO-სინთაზას ენდოთელური (eNOS) და ნეირონული (nNOs) ფრაქციების ექსპრესია. მირაბეგრონი და კვერცვტინი ტესტოსტერონთან და ესტრადიოლთან შერწყმით, სპაზმექსისგან განსხვავებით, დაკვირვების ადრეულ ეტაპზევე ხელს უწყობს eNOS-ის და nNOs-ის ექსპრესიის სტაბილიზებას, ასევე, ამცირებს iNOS-ის ექსპრესიის ხარისხს, სრული გაქრობით დაკვირვების გვიან ეტაპებზე.

ახოტის ოქსიდის წამყვანი როლის გათვალისწინებით ჰაშბ-ის და შსშ-ის პათოგენეზში, შარდის ბუშტის კედლის სტრუქტურულ ელემენტებში NO-სინთაზას ენდოთელური, ნეირონული და ინდუციბელური ფრაქციების განაწილების შემდგომი კვლევა ხსნის ახალ პერსპექტივებს არსებული შეხედულებების შეცვლისათვის უროდინამიკური დარღვევების მექანიზმების შესახებ, ასევე, ახალი პრეპარატების შემუშავებისათვის კორექციისა და მკურნალობის პოლიტიკის ოპტიმიზებისათვის.

## THE STATE OF THE CYSTATHIONINE GAMMA-LYASE / H<sub>2</sub>S SYSTEM IN THE LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF RATS WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA UNDER SIMVASTATIN ADMINISTRATION

Voloshchuk N., Melnik A., Danchenko O., Nechiporuk V., Kosechenko N.

*National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine*

Nowadays among the drugs for treatment, primary and secondary prevention of atherosclerotic cardiovascular events statins represent one of the most powerful agents because in addition to beneficial lipid-lowering action, statins seem to have wide spectrum of non-lipid-mediated pleiotropic effects such as anti-inflammatory, anti-thrombogenic, anti-proliferative, immunomodulatory properties [8,10,12].

Statins have demonstrated the beneficial effects of treatment cardiovascular disorders, diabetes mellitus, peripheral arteries diseases, produced a significant reduction in incident myocardial infarction, stroke and death from cardiovascular disease in all patients [2, 4]. The mechanism of statins action is associated with inhibition of the key reaction of cholesterol synthesis pathway - the formation of mevalonic acid, which is the source of isoprenoid

equivalents. Thus, the first stage in the cholesterol synthesis chain thereby is interrupted: acetyl coenzyme A → mevalonate → 5 mevalonate pyrophosphate → isopentenyl pyrophosphate → 3.3 dimethyl pyrophosphate → geranyl pyrophosphate → farnesyl pyrophosphate → squalene → lanosterol → cholesterol. However, the effects of statins extend beyond their cholesterol-lowering action, inhibition of HMG-CoA reductase, the regulatory enzyme of the pathway, results in disturbances in practically all vital cellular processes, such as the formation of a component of the mitochondrial electron-transport chain of ubiquinone and the posttranslational protein glycosylation and prenylation, which are necessary for the regulation of numerous cellular functions [5,12]. Thus, the most common side effects have been associated with

the use of statins are myotoxicity and hepatotoxicity. The mechanisms of development of adverse reactions with long-term use of statins remain the subject of scientific researching, but there is no doubt that ubiquinone deficiency which induced by statins, reduces mitochondrial energy production in cardiomyocytes and their antioxidant potential. In addition, the disturbances of protein prenylation are involved in the pathogenesis of statin myopathy [7]. Simvastatin and other HMG-CoA reductase inhibitors are one of the most frequently prescribed class of medications, which are included in the National List of lipid-lowering medicines in Ukraine for treatment cardiovascular diseases.

Simvastatin is generally well-tolerated and severe adverse events related to pharmacotherapy are detected mainly in the elderly patients with kidney failure, diabetes mellitus, hypothyroidism or with the addition of interacting drugs to a patient's therapy [3,14,16]. The myotoxic and hepatotoxic effects of simvastatin have been demonstrated dose-response relationships, and the risk of muscular symptoms frequency and severity increase significantly with high dosages of statins [13]. Thus, it remains relevant to conduct significant studies to determine statin toxicity mechanisms for searching ways to reduce the adverse reactions of their using.

Recently, the attention of scientists has spawned a rapidly growing research of the biologically active molecule hydrogen sulfide ( $H_2S$ ), which is involved in maintaining the vascular tone, reveals the cytoprotective properties, regulation of inflammatory response reaction and apoptosis, ability to act as an antioxidant, and also as an inhibitor of atherogenesis [5,6,15]. It has been known that the atorvastatin using is associated with an inhibition in  $H_2S$  content in the liver and an increase in its level in the brain, heart and kidneys [6,17]. There is currently no data on the effects of simvastatin on  $H_2S$  levels in organs. It is possible that the system of this gasotransmitter may be involved in the realization of hypolipidemic action and the toxic effects of this statin.

The aim of this study was to evaluate changes in the hydrogen sulfide content and the main enzyme for the synthesis of  $H_2S$  in the liver and skeletal muscles - cystathionine gamma-lyase (CSE) in the liver and skeletal muscles in hypercholesterolemic rats treated by simvastatin, as well as the effect of propargylglycine (inhibitor of CSE) on the hepato- and myotoxic effects of simvastatin.

**Material and methods.** Studies were performed on 94 male Wistar rats weighing 180-220 g. After a 2-week quarantine, the animals were randomized using colored labels, divided into groups of 6 individuals for the homogeneity of the groups according to body weight ( $\pm 10\%$ ). Rats were in standard conditions with 12-hour day/night mode and access to water *ad libitum*.

All interventions were carried out in compliance with the general ethical principles of animal experiments according to the First National Congress of Ukraine on Bioethics (Kiev, 2001) and the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scien-

tific purposes" (Strasbourg, 1986), other international agreements and national legislation in this field.

According to the purposes of the study, group 1 (intact rats) was kept on dry food, to which sunflower oil was added in an amount of 5% of the weight of the feed. The animals of all other groups were kept on a hypercholesterolemic diet for 4 weeks [1], which consisted of dry food containing 3% cholesterol (Sigma, USA), 0.12% methylthiouracil (Sigma, USA). Cholesterol and methylthiouracil were previously dissolved in sunflower oil, added to the dry food and carefully mixed (the oil content was 5% of the weight of the dry food). Animals of the 2nd group were fed with only a hypercholesterolemic diet (untreated control). The animals of the 3rd group on the background of hypercholesterolemic diet orally received simvastatin (Vasilip KRKA d.d. Novo Mesto) at a dose of 60 mg/kg, which was administered for 28 days orally as an aqueous suspension on a 1% starch solution using a probe.

The effect of propargylglycine (inhibitor of cystathionine- $\gamma$ -lyase, the main enzyme of  $H_2S$  synthesis in the liver and skeletal muscles) on the hepatotoxic and myotoxic effects of simvastatin was evaluated in the second part of our study. The animals were divided into the following groups: 1-st group - control (n = 17); 2-nd group received simvastatin (n = 17), 3rd group received a combination of simvastatin and propargylglycine (n = 9). Simvastatin was administered orally to rats for 7 days at a dose of 150 mg/kg, which is regarded as myo-hepato- and nephrotoxic. D,L-propargylglycine (Sigma, USA) was administered intraperitoneally at a dose of 50 mg / kg for 2 hours before each administration of simvastatin, which provides a powerful inhibition of CSE.

Serum, homogenates and post-nuclear supernatants of the liver and skeletal muscles were evaluated for biochemical studies. Serum was obtained by centrifugation at 1500 rpm. within 20 min. Serum aliquots were collected in Eppendorf microtube and stored at  $-20^\circ C$  for analysis. To determine the activity of CSE, the liver and skeletal muscle were perfused with a cold 1.15% solution of potassium chloride, shredded with scissors, homogenized in a 1.15% potassium chloride medium in a ratio of 1: 3 (mass/volume) at 3000 rpm Teflon-glass), strain through 2 layers of gauze to remove coarse parts. Postnuclear fraction was obtained by centrifugation of homogenates for 30 min at 1500 g and  $+4^\circ$ . The supernatant was collected in Eppendorf microtube and stored at  $-20^\circ C$  for analysis.

To determine the  $H_2S$  content, the liver and skeletal muscle were washed with cold 1.15% KCl solution, scraped off with scissors, homogenized in 0.01 M NaOH in a ratio of 1: 5 (mass / volume) at 3000 rpm (Teflon glass). To 1 ml of a homogenate, 250  $\mu$ l of 50% trichloroacetic acid were added, centrifuged at 1200 g for 15 min. and a supernatant was received, which was immediately used for research.

The  $H_2S$  content was determined according to spectrophotometric method by reaction with N, N-dimethyl-para-phenylenediamine in the presence of  $FeCl_3$  [18]. 250 ml of 50% trichloroacetic acid was added to 1 ml of homog-



enate, centrifuged at 1200 g for 15 min. H<sub>2</sub>S content was determined in the supernatant by the spectrophotometric method by reaction with N, N-dimethyl-para-phenylenediamine in the presence of FeCl<sub>3</sub>. All manipulations were carried out in sterile sealed plastic test tubes (to prevent H<sub>2</sub>S losing). The content of the sulfide anion in the sample was calculated from the calibration curve. The standard was water solutions of Na<sub>2</sub>S • 9H<sub>2</sub>O with a concentration of 31.2-3120 μm.

The activity of cystathionine-γ-lyase (CSE, EC 4.4.1.1) was determined in the post-nuclear supernatant by the increment of the sulfide anion, which was determined from the methylene blue formation reaction [10]. The incubation medium contained pyridine oxalophosphate 0.67 mmol, L-cysteine 3.3 mmol, tris-buffer 0.083 M (pH 8.5) at final concentrations. 0.5 ml of the incubation medium was introduced into the tubes and 0.1 ml of samples containing 1-2 mg of the protein of the supernatant supernatant were added. To prevent losses of H<sub>2</sub>S, the tubes were covered with a "Parafilm" film and incubated at 37°C. Control samples were incubated without homogenate, which was added only after the reaction was stopped. The reaction was stopped by cooling the test tubes on ice, after which 1% zinc acetate solution was added to bind the sulfide anion, a 20 mM solution of N, N-dimethyl-para-phenylenediamine in 7.2 mM HCl, a 30 mM solution of FeCl<sub>3</sub> in 1.2M HCl. The tubes were incubated for 20 minutes. at 18-25 ° C, then 20% trichloroacetic acid was added, centrifuged for 10 min. at 1500 g. The optical density of the supernatant was measured by photoelectric calorimeter at a wavelength of 670 nm against a control sample that was treated as a test sample, except that the supernatant was introduced into the medium after incubation and cooling.

The activity of alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2), creatine kinase (CK, EC 2.7.3.2), and lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27) was determined in serum blood using the standard sets of Filisit-Diagnostics LLC, SpinLab (Ukraine).

Primary material processing was performed using the universal statistical software MS Excel, SPSS22 for Windows, «STATISTICA 6.0» Average value (M), standard errors (m) were determined. The normality of distribution of indicators was determined according to Shapiro-Wilk's criterion. The reliability of the differences between the indices was estimated using the Student's parametric t-criterion under normal distribution conditions and the non-parametric U-Mann-Whitney criterion in its absence.

The relationship between the indicators was determined using the Pearson correlation analysis (with normal distribution, rxy) and Spirman (in case of mismatch with normal distribution, rSp). Statistically significant differences were considered when p < 0.05.

**Results and their discussion.** The activity of hydrogen sulfide production in the reaction of cysteine hydrolysis with CSE in the liver and skeletal muscles was assessed at the first stage (Table 1). It has been determined that the high cholesterol diet was accompanied by a depressing effect on the activity of CSE in the rats organs. Thus, the activity of this enzyme in the liver and skeletal muscles in the group of animals with untreated hypercholesterolemia was lower by 18.1% and 18.7% (p < 0.05), respectively, compare to such parameters in the control group. Simvastatin using is accompanied by more pronounced inhibitory effect on the production of hydrogen sulfide. Due to these condition, the activity of CSE in the liver and skeletal muscles was less by 18.5 and 16.9% (p < 0.05), respectively, compare to untreated animals, respectively.

We also determined the hydrogen sulfide content in the liver and skeletal muscles (Table 1). It has been shown that hypercholesterolemia leads to hydrogen sulfide deficiency in the organs of rats. The level of H<sub>2</sub>S in the liver and skeletal muscles in the group of animals with hypercholesterolemia was lower by 25.3 % and 23.0% (p < 0.05), respectively, compare to the such parameters in the control group. Using of simvastatin increases the scale of changes in H<sub>2</sub>S content in the rats' organs. The use of statin is accompanied by a decrease in the level of H<sub>2</sub>S in the liver and skeletal muscles by 23.9 and 20.3% (p < 0.05), respectively, compare to the indices of untreated animals group.

Then we determined the effect of the CSE inhibitor propargylglycine on simvastatin-induced changes in the activity of CSE and the H<sub>2</sub>S content in the rats' organs (Table 2). It has been shown that propargylglycine significantly acted on the depressing effect of huge doses of simvastatin on the production of H<sub>2</sub>S in the internal organs of rats. Thus, in the group of animals receiving simvastatin, the activity of CSE in the liver and skeletal muscles was lower by 26.1% and 22.8% (p < 0.05), respectively, compared to the control group of animals. However, in case of a combination of simvastatin with propargylglycine, the activity of CSE in the rats' organs was lower by 66.1% and 62.7% (p < 0.05), compared to control group.

Table 1. The effect of simvastatin on cystathionine-γ-lyase activity and hydrogen sulfide content in the liver and skeletal muscle of rats under hypercholesterolemia (M±m)

The groups of animals	CSE, nmol H <sub>2</sub> S / min • mg of protein		H <sub>2</sub> S, nmol / mg of protein	
	Liver	Skeletal muscles	Liver	Skeletal muscles
Control group, n= 17	3,10±0,14	0,225±0,009	3,92±0,22	1,35±0,06
Hypercholesterolemia				
Untreated animals, n= 17	2,54±0,10#	0,183±0,011#	2,93±0,16#	1,04±0,04#
Simvastatin, n= 17	2,07±0,16#	0,152±0,010#	2,23±0,17#	0,829±0,042#

notes: 1. \* - statistically significant difference (p < 0.05) compare to the simvastatin group

2. # - statistically significant difference (p < 0.05) compare to the control group



Table 2. The effect of propargylglycine on simvastatin-induced changes in cystathionine- $\gamma$ -lyase activity and hydrogen sulfide in liver and skeletal muscle in rats ( $M \pm m$ )

The groups of animals	CSE, $\mu\text{mol H}_2\text{S}/\text{min} \cdot \text{mg of protein}$		$\text{H}_2\text{S}$ , $\mu\text{mol}/\text{mg of protein}$	
	Liver	Skeletal muscles	Liver	Skeletal muscles
Control group, n= 17	3,07 $\pm$ 0,15	0,228 $\pm$ 0,012	3,96 $\pm$ 0,19	1,39 $\pm$ 0,08
Simvastatin, n= 17	2,27 $\pm$ 0,17#	0,176 $\pm$ 0,012#	2,53 $\pm$ 0,17#	0,902 $\pm$ 0,044#
Simvastatin + propargylglycine, n= 9	1,04 $\pm$ 0,08*#	0,085 $\pm$ 0,006#	0,905 $\pm$ 0,023*#	0,405 $\pm$ 0,023*#

notes: 1. \* - statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) compared to the group simvastatin;

2. # - statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) compared to the control group;

3. & - statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) compared to the group simvastatin + propargylglycine

Table 3. The effect of propargylglycine on simvastatin-induced changes in serum activity of liver enzyme and muscle enzymes in rats ( $M \pm m$ )

The groups of animals	Blood serum, $\mu\text{mol} / \text{min} \cdot \text{l}$		
	CK	LDH	ALT
Control group, n= 17	205 $\pm$ 12	1217 $\pm$ 101	34,9 $\pm$ 2,91
Simvastatin, n= 17	666 $\pm$ 43#	3619 $\pm$ 191#	97,9 $\pm$ 5,92#
Simvastatin + propargylglycine, n= 9	1280 $\pm$ 42*#	6500 $\pm$ 250*#	156 $\pm$ 4,59*#

notes: 1. \* - statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) compared to the simvastatin group;

2. # statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) compared to the control group;

3. & - statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) compared to the group simvastatin + propargylglycine

Table 4. Correlation coefficients between  $\text{H}_2\text{S}$  production in the liver and skeletal muscles and markers of hepato- and myotoxicity in rats treated with simvastatin and propargylglycine ( $n = 52$ )

Indexes	CK	LDH	ALT
Liver CSE	-0,28	-0,25	-0,51*
Skeletal muscles CSE	-0,54*	-0,49*	-0,26
Liver $\text{H}_2\text{S}$	-0,25	-0,26	-0,60*
Skeletal muscles $\text{H}_2\text{S}$	-0,59*	-0,52*	-0,29

note: \* - significant ( $p < 0.05$ ) correlation coefficients at  $r \geq 0.31$

Propargylglycine significantly produced hydrogen sulphide deficiency in the liver and skeletal muscle of rats induced by simvastatin. Thus, in the group of animals treated with simvastatin, the level of hydrogen sulfide in the liver and skeletal muscles was less by 36.1% and 35.1% ( $p < 0.05$ ), respectively, compared to the control group of animals. However, in case of combination of simvastatin and propargylglycine, the hydrogen sulfide level in the organs of rats was lower by 77.1% and 70.9% ( $p < 0.05$ ), compared to the control group.

Later, the effect of propargylglycine on simvastatin-induced changes in the activity of specific enzymes affecting the liver and skeletal muscles has been evaluated (Table 3).

It has been shown propargylglycine using was accompanied by severe increase in the toxic effect of simvastatin on muscle tissue and liver. So, if the using simvastatin alone caused an increase in activity of CK, LDH, ALT 3.2; 3.0 and 2.8 -fold ( $p < 0.05$ ), in group of combination simvastatin and propargylglycine the increase in the activity of these enzymes was 6.2; 5.3 and 4.5 -fold ( $p < 0.05$ ).

Additional evidence that hepatotoxicity and myotoxic-

ity of simvastatin may be a consequence of the depressing effects on the system of CSE /  $\text{H}_2\text{S}$  in the liver and skeletal was provided by a correlation analysis (Table 4). It has been found that the activity enzymes of cytolysis such as CK, LDH and ALT in rat serum was statistically significantly and inversely correlated with the activity of CSE and the hydrogen sulfide content in the liver and skeletal muscles. That is, if the products and the level of hydrogen sulfide were less, the liver and muscle damage to the of animals were more expressive.

Thus, our studies have been shown a hypercholesterolemic diet is accompanied by a decrease in the production and content of hydrogen sulfide in the liver and skeletal muscles. The simvastatin using increases the scale of abnormalities in the system of CSE/ $\text{H}_2\text{S}$  induced by hypercholesterolemia. It is known that hydrogen sulfide is an important cytoprotector, a powerful antioxidant and regulator of vascular tone [6,12,16]. Therefore, the production of  $\text{H}_2\text{S}$  deficiency in case of simvastatin using is probably another molecular mechanism for realizing the hepato- and myotoxic effects of this statin. An important

evidence of this fact is the presence of strong associative links between the hydrogen sulfide level and markers of hepatocytes and skeletal muscles damage in simvastatin using. Another confirmation of the role of the hydrogen sulfide system in the production of the toxic effect of this lipid-lowering drug provides data on the influence of the propargylglycine as inhibitor of synthesis hydrogen sulfide on the myo- and hepatotoxic effects of simvastatin. It has been shown that propargylglycine produced liver and skeletal muscle damage induced by statins.

The obtained data substantiate the expediency of using sulfide hydrogen exchange modulators to prevent the side effects of statins, in particular myo- and hepatotoxicity of simvastatin.

## REFERENCES

1. Горчакова Н.О., Дрововоз С.М., Чайка Л.А., Чекман И.С. та ін. Вивчення гіполіпемічних та протиатеросклеротичних засобів. В кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За ред. О.В.Стефанова. К.: «Авіцена». 2001. 527 с.
2. Дреева З.В., Агеев Ф.Т. История рождения статинов. Новые перспективы // Медицинский совет. 2017, №11: 202-220.
3. Кобалава Ж.Д., Виллевалде С.В., Шаварова Е.К. Безопасность статинов: реальное и надуманное // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2007. 6 (2): 105-112.
4. Ухолкина Г.Б. Статины – прошлое, настоящее, будущее // Ліки України. 2013; 4 (170): 45-50.
5. Baker S.K. Molecular clues into the pathogenesis of statin-mediated muscle toxicity // Muscle Nerve. 2005; 31 (5): 572-580.
6. Beltowski J., Jamroz-Wiśniewska A. Modulation of h(2)s metabolism by statins: a new aspect of cardiovascular pharmacology // Antioxid Redox Signal. 2012; 17(1): 81-94.
7. Canestaro W.J., Austin M.A., Thummel K.E. Genetic factors affecting statin concentrations and subsequent myopathy: a HuGENet systematic review // Genet Med. 2014; 16(11): 810-819.
8. Desai C.S., Martin S.S., Blumenthal R.S. Non-cardiovascular effects associated with statins // BMJ. 2014. doi: 10.1136/bmj.g3743.
9. Dombkowski R., Russell M., Olson K. Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2004; 286: 678-685.
10. Fischer S., Schatz U, Julius U. Practical recommendations for the management of hyperlipidemia. Atheroscler Suppl. 2015; 18: 194-198.
11. Gemici B., Elsheikh W., Feitosa K.B., et al. H2S-releasing drugs: anti-inflammatory, cytoprotective and chemopreventative potential // Nitric Oxide. 2015; 46: 25-31.
12. Jasińska M., Owczarek J., Orszulak-Michalak D. Statins: a new insight into their mechanisms of action and consequent pleiotropic effects // Pharmacol Rep. 2007; 59 (5): 483-499.
13. Kitzmiller J.P., Mikulik E.B., Dauki A.M., Murkherjee C., Luzum J.A. Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects // Pharmgenomics Pers Med. 2016; 9: 97-106.
14. McClure D.L., Valuck R.J., Glanz M., Murphy J.R., Hokanson J.E. Statin and statin-fibrate use was significantly associated with increased myositis risk in a managed care population // J Clin Epidemiol. 2007; 60 (8): 812-818.
15. Rose P., Moore P.K., Zhu Y.Z. H2S biosynthesis and catabolism: new insights from molecular studies. Cell Mol Life Sci. 2017; 74 (8): 1391-1412.
16. Schmidt G.A., Hoehns J.D., Purcell J.L. et al. Severe rhabdomyolysis and acute renal failure secondary to concomitant use of simvastatin, amiodarone, and atazanavir // J Am Board Fam Med. 2007; 20 (4): 411-416.
17. Wiliński B., Wiliński J., Somogyi E., et al. Atorvastatin affects the tissue concentration of hydrogen sulfide in mouse kidneys and other organs // Pharmacol Rep. 2011; 63(1): 184-188.
18. Wiliński B, Wiliński J, Somogyi E, et al. Carvedilol induces endogenous hydrogen sulfide tissue concentration changes in various mouse organs // Folia Biol (Krakow). 2011; 59(3-4): 151-155.

## SUMMARY

### THE STATE OF THE CYSTATHIONINE GAMMA-LYASE / H<sub>2</sub>S SYSTEM IN THE LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF RATS WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA UNDER SIMVASTATIN ADMINISTRATION

Voloshchuk N., Melnik A., Danchenko O.,  
Nechiporuk V., Kosechenko N.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine

In studies on 94 male Wistar rats changes in the hydrogen sulfide content (H<sub>2</sub>S) and cystathionine γ-lyase (CSE) in the liver and skeletal muscles in hypercholesterolemia under simvastatin treatment were assessed, as well as the effect of propargylglycine (PAG) on hepato- and myotoxicity of simvastatin. It was determined, that simvastatin inhibited the CSE-mediated synthesis of H<sub>2</sub>S in the main target organs. This negatively affected their biochemical and functional status. The use of PAG significantly suppressed the H<sub>2</sub>S deficiency induced by simvastatin, and also was accompanied by a significant increase in the activity of cytolysis markers in the serum, which significantly and negatively correlated with the activity of CSE and H<sub>2</sub>S in organs. Thus, formation of H<sub>2</sub>S deficiency due to simvastatin intake is probably one of the molecular mechanisms for the realization of hepato- and myotoxicity of this drug.

**Keywords:** hypercholesterolemia, simvastatin, hydrogen sulfide, myotoxicity, hepatotoxicity.

## РЕЗЮМЕ

### СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЦИСТАТИОНИН-ГАМА-ЛИАЗА/H<sub>2</sub>S В ПЕЧЕНИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ У КРЫС С ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ СИМВАСТАТИНА

Волощук Н.И., Мельник А.В., Данченко О.П.,  
Нечипорук В.М., Косеченко Н.Ю.

Винницький національний медичинський університет ім. Н.И. Пирогова, Україна

В опытах на 94 крысах-самцах линии Вистар оценено изменение содержания гидрогенсульфида (H<sub>2</sub>S) и цистатионин-γ-лиазы (ЦГЛ) в печени и скелетных

мышцах при гиперхолестеринемии, леченной симва-  
статином, а также влияние пропаргилглицина (ППГ)  
на его гепато- и миотоксичность. Выявлено, что пре-  
парат угнетает ЦГЛ-опосредованный синтез H<sub>2</sub>S в  
основных органах-мишенях, что негативно отража-  
ется на их биохимическом и функциональном стату-  
се. ППГ не только усиливает дефицит H<sub>2</sub>S, но и зна-

чительно повышает активность маркеров цитолиза в  
сыворотке, что достоверно и обратнокоррелирует с  
активностью ЦГЛ и содержанием H<sub>2</sub>S в органах. Та-  
ким образом, формирование дефицита H<sub>2</sub>S на фоне  
приема симвастатина, по всей вероятности, является  
одним из молекулярных механизмов реализации его  
гепато- и миотоксичности.

რეზიუმე

ცისტათინინ- $\gamma$ -ლიაზა/ H<sub>2</sub>S სისტემის მდგომარეობა ღვიძლსა და ჩონჩხის კუნთებში  
ვირთავებში ჰიპერქოლესტერინემიით სიმვასტატინის გამოყენების ფონზე

ბ. ვოლოშჩუკი, ა. მელნიკი, ო. დანჩენკო, ვ. ნეჩიპორუკი, ნ. კოსეჩენკო

ვინიცას ნ. პიროგოვის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, ვინიცა, უკრაინა

ვისტარის ჯგომის 94 მამრ ვირთავებაზე ჩა-  
ტარებულ ცდებში შეფასებულია ჰიდროგენსულ-  
ფიდის (H<sub>2</sub>S) და ცისტათინინ- $\gamma$ -ლიაზას (ცგლ)  
შემცველობა ღვიძლსა და ჩონჩხის კუნთებში სიმ-  
ვასტატინით ნამკურნალები ჰიპერქოლესტერი-  
ნემიის დროს და პროპარგლიცილის (პპგ)  
გაგვლენა სიმვასტატინის ჰეპატო- და მიოტოქსი-  
კურობაზე. დადგენილია, რომ პრეპარატი ძირი-  
თად სამიზნე ორგანოებში თრგუნავს H<sub>2</sub>S-ის  
ცგლ-გაშუქვალელებულ სინთეზს, რაც უარყოფი-

თად აისახება მათ ბიოქიმიურ და ფუნქციურ  
სტატუსზე. პპგ არა მარტო აძლიერებს H<sub>2</sub>S-ის  
დეფიციტს, არამედ მნიშვნელოვნად ზრდის ცი-  
ტოლიზის მარკერების აქტივობას შრატში, რაც  
სარწმუნოდ და უკუპროპორციულად კორელირებს  
ცგლ-აქტივობასა და H<sub>2</sub>S-ის შემცველობასთან ორ-  
განოებში. ამრიგად, სავარაუდოა, რომ H<sub>2</sub>S-ის დეფ-  
იციტის შექმნა სიმვასტატინის მიღების ფონზე  
წარმოადგენს მისი ჰეპატო- და მიოტოქსიკურობის  
რეალიზების ერთ-ერთ მოლეკულურ მექანიზმს.

## STATIN-ASSOCIATED INTOLERANCE AND ITS PREVENTION

Karsanidze A., Antelava N., Gorgasledze N., Ghonghadze M., Okudzhava M., Pachkoria K.

Tbilisi State Medical University, Department of Pharmacotherapy, Georgia

Since the introduction of statins in the 1980s, they have  
become a mainstay of lipid-lowering therapy. As such,  
there is a large and growing population of people who are  
receiving these drugs. Given the large absolute number  
of patients on these medications, it is not uncommon to  
find those who describe intolerance. This complicates the  
ability of patients to achieve long-term lipid lowering ef-  
fects, which are especially critical for secondary preven-  
tion strategies. Not unexpectedly, attention to this issue  
is growing, and much literature addressing the definition  
and treatment has been proposed. Furthermore, focused  
clinicians are being recruited to treat these challeng-  
ing cases. Here we attempt to provide a comprehensive  
overview of muscle related statin intolerance to broaden  
the scope of understanding for healthcare providers. It is  
first important to define statin intolerance and address its  
mechanism, predisposition and clinical circumstances.  
The diagnosis, prevention and treatment of statin intoler-  
ance can then be appropriately described.

*Definition.* There is no clear consensus or guideline  
definition of statin intolerance. However, it is generally  
accepted to be the presence of clinically significant ad-

verse effects that may either represent risk to the patient  
or result in compromised compliance with therapy. Other  
acceptable inclusions would be the inability to success-  
fully reach a specific therapeutic goal due to intolerant  
symptoms at approved or less than approved nondaily  
doses. Commonly reported side effects are predominant-  
ly muscle related, including muscle aches, weakness or  
cramps, which can significantly impact quality of life,  
thus compromising adherence to statin therapy. It is also  
important to note that many terms describing statin-relat-  
ed myotoxicity lack a universal definition that can lead  
to confusion when interpreting statin literature. Specifi-  
cally, myopathy, myalgia and myositis are terms that are  
used inconsistently both in research and clinical practice.  
These terms are often used interchangeably among both  
patients and physicians. For example, myopathy does not  
necessarily connote symptoms. This lack of consistency  
and confusion may stem from the fact that the definition  
of these terms varies even between expert panel consen-  
sus statements [36].

The FDA defines myopathy as a creatinine kinase (CK)  
elevation of at least tenfold, without any specific defini-

tions for myalgia or myositis. A 50-fold increase in CK and evidence of organ damage defines rhabdomyolysis. The National Lipid Association differs in that it defines myopathy with the presence of myalgia. Alternatively, the ACC, AHA and NHLBI define myopathy as any muscular disease and myalgia as muscle ache or weakness. They further define myositis as muscle symptoms with CK elevation and rhabdomyolysis as muscle symptoms with a greater than tenfold increase in CK [30]. Undoubtedly, this provides confusion, not only among clinicians, but also contributes to uncertainty regarding how we interpret the data, especially when there is a lack of consensus on how it is defined. Most importantly, it impacts how the data is interpreted by patients and ultimately creates a greater misunderstanding among the general public. In order to provide some clarity, we propose that statin intolerance be universally defined as the inability to tolerate two different statins; one at FDA-approved doses and another second statin at any dose.

*Statin-associated muscle symptoms.* Statin intolerance is an inability to tolerate the dose of a statin required to sufficiently reduce a person's LDL cholesterol and/or cardiovascular risk, due to significant adverse effects including abnormally elevated markers of either liver or muscle function [19,24]. There is evidence to indicate that statins may increase the risk of muscle symptoms, elevated liver function enzymes and new-onset diabetes [13,19]. Muscle symptoms are the most common form of statin intolerance encountered in clinical practice [19-34]. 'Statin-associated muscle symptoms' – abbreviated here as 'SAMS' – is the overarching term used to describe any adverse muscle effects linked to the use of a statin. These can range from mild non-life-threatening symptoms such as myalgia, to more serious but rare conditions such as rhabdomyolysis [32,34].

*SAMS are not very common in controlled trials.* Myalgia during statin therapy is reported in a variable proportion of patients between 7% and 29% in clinical practice and some observational studies [31,34] Although muscle complaints are common among patients receiving statin therapy in practice, evidence from controlled trials suggests the true incidence of SAMS is between 1% and 5%. STOMP is the only randomised controlled trial (RCT) designed specifically to investigate the incidence of SAMS and the effect of statins on muscle and exercise performance. [31] In this study, statin-associated myalgia was defined as new or increased muscle pain, cramps, or aching that: was not associated with exercise; persisted for 2 weeks; resolved within 2 weeks of stopping the statin, and recurred within 2 weeks of restarting the medication. Statin-naïve patients (n=420) were treated with either atorvastatin 80 mg or placebo for 6 months. At follow up, a myalgia incidence rate of 9.4% was reported among the statin treated patients. [31] Of the placebo-treated group, 4.6% met the same, standardized definition of myalgia [31]. Other RCTs have also reported a low incidence of myalgia (1-5%) and similar rates in statin and placebo groups [32,34]. The most recent systematic reviews of this topic have shown that the incidence of muscle symptoms was similar in statin- and placebo-treated patients [14,20].

It is worth noting that strict inclusion and exclusion criteria mean that patients with an increased risk for musculoskeletal symptoms may be underrepresented in RCTs [20,34]. Nonetheless, these incidence rates are considerably lower than the upper limit reported in practice [31,34]. Also notable are results from a 2016 randomized crossover study of patients with a strong history of muscle-related statin intolerance. At follow up, over a quarter of these patients (26.5%) reported muscle symptoms with placebo but not with a statin. Another 17.3% of patients reported no symptoms with either treatment and another 9.8% experienced symptoms with both treatments [28]. Overall, these findings suggest that at least some, if not many, of the muscle complaints in statin-treated patients may be non-specific and not necessarily caused by statins. Lack of standard definitions for SAMS, and the absence of a standardised diagnostic test or validated questionnaire, probably contribute to the notable difference in reported incidence rates. Serious statin-associated myopathies are rare. Muscle symptoms with creatine kinase elevations >10 x the upper limit of normal (ULN) occur in 1/1000 to 1/10,000 patients per year depending on the statin, its dose, and the presence of other risk factors [13]. Rhabdomyolysis is also extremely rare, with an incidence risk of approximately 1 per 100,000 patients per year [13,34].

*Not all muscle symptoms are SAMS.* A patient being treated with a statin presents with muscle complaints and the question arises – is it SAMS? To maximize the benefits of statin therapy and avoid unnecessary medicine changes, use a systemic approach to assess and confirm a diagnosis of SAMS in patients presenting with muscle symptoms. Guidelines recommend using statin discontinuation and rechallenge to diagnose and gauge severity of statin intolerance [34,37]. However, prior to a discontinuation-rechallenge, health professionals can assess the likelihood that muscle symptoms are due to a statin by undertaking a detailed history and clinical examination, and taking into consideration: nature of the symptoms; timing of the symptoms; elevation in creatine kinase (CK) levels and their association with the start of statin therapy [1,34,37]. The SAMS Assessment Guide can help to establish the likelihood that muscle symptoms in your patient may be associated with their statin therapy. For a more comprehensive assessment, we can use the American College of Cardiology's Statin Intolerance Tool. Being aware of risk factors for statin intolerance can also help to recognise patients who may be at higher risk of developing SAMS. Clinical studies have identified a range of risk factors including genetics, patient characteristics, comorbid conditions and medicines that increase a patient's risk for statin intolerance [2,34].

**Management.** If a patient complains of muscle symptoms, the clinician needs to evaluate risk factors which can predispose to statin-associated myopathy, exclude secondary causes (especially hypothyroidism and other common myopathies such as polymyalgia rheumatica, or increased physical activity), and review the indication for statin use. The clinician should bear in mind that other commonly pre-



scribed drugs such as anti-inflammatory (glucocorticoids), antipsychotic (risperidone, haloperidol), immunosuppressant or antiviral agents (human immunodeficiency virus protease inhibitors), lipid-modifying drugs (gemfibrozil), as well as substances of abuse (alcohol, opioids, and cocaine) may also cause muscle-related side effects.

Several factors including female sex, ethnicity, multisystem disease, and small body frame predispose to SAMS. Age, 80 years old (general caution advised for age 75), female, low body mass index, Asian descent. Concurrent conditions: acute infection, hypothyroidism (untreated or undertreated), Impaired renal (chronic kidney disease classification 3, 4, and 5) or hepatic function, biliary tree obstruction, organ transplant recipients, severe trauma, Human immunodeficiency virus, Diabetes mellitus, vitamin D deficiency. Surgery with high metabolic demands. The American Heart Association recommends temporary cessation of statins prior to major surgery. Related History of creatine kinase elevation, especially  $10\times$  the upper limit of the normal range. History of pre-existing/unexplained muscle/ joint/tendon pain. Inflammatory or inherited metabolic, neuromuscular/muscle defects (e.g. McArdle's disease, carnitine palmitoyl transferase II deficiency, myoadenylate deaminase deficiency, and malignant hyperthermia). Previous statin-induced myotoxicity. History of myopathy while receiving another lipid-lowering therapy. Genetic factors such as polymorphisms in genes encoding cytochrome P450 isoenzymes or drug transporters.

Other risk factors are: High level of physical activity, dietary effects (excessive grapefruit or cranberry juice), excess alcohol drug abuse (cocaine, amphetamines, heroin), with the presence of an increasing number of factors associated with greater risk [3,5,24]. Additionally, pharmacokinetic drug–drug interactions (DDIs) that increase statin exposure increases the risk of statin-associated myopathy, high-dose statin therapy, polypharmacy, concomitant use of certain drugs including gemfibrozil, macrolides, azole antifungal agents, protease inhibitors, and immunosuppressive drugs such as cyclosporine, and inhibitors of CYP450 isoenzymes, OATP 1B1, or P-gp, can affect the metabolism of statins, increase their circulating levels and, consequently, the risk for SAMS.

Polypharmacy, including both prescribed and self-prescribed or over the counter medications (e.g. vitamins, minerals and herbal remedies), is a potential cause of DDIs with statins. In addition, pharmacogenetic considerations may be relevant, potentially influencing plasma concentrations of statins and in turn statin–drug interactions. Once secondary causes and predisposing factors have been excluded, EAS Consensus Panel recommends a review of the need for ongoing statin therapy:

Ensure that there is an indication for statin use and that the patient is fully aware of the expected benefit in cardiovascular disease risk reduction that can be achieved with this treatment.

Ensure that there are no contraindications to statin use, counsel patients regarding the risk of 'side effects' and the high probability that these can be dealt with success-

fully. Emphasize dietary and other lifestyle measures. Use statin-based strategies preferentially notwithstanding the presence of statin-attributed muscle-related symptoms. If re-challenge does not work; use a low or intermittent dosing preferably of a different (potent or efficacious) statin. Use non-statin therapies as adjuncts as needed to achieve low-density lipoprotein cholesterol goal. Do not recommend supplements to alleviate muscle symptoms, as there is no good evidence to support their use

*Patients with muscle symptoms with serum creatine kinase  $<4\times$  upper limit of normal.* The majority of patients who complain of muscle symptoms have normal or mild/moderately elevated CK levels ( $<4\times$  ULN) [6]. For patients at low CVD risk, their need for a statin should be reassessed and the benefits of therapeutic lifestyle changes, such as cessation of cigarette smoking, blood pressure control, and adoption of a Mediterranean style diet, should be balanced against the risk of continuing statin therapy. Conversely, for those patients at high CVD risk, including those with CVD or diabetes mellitus, the benefits of ongoing statin therapy need to be weighed against the burden of muscle symptoms. Withdrawal of statin therapy followed by one or more re-challenges (after a washout) can often help in determining causality; additional approaches include the use of an alternative statin, a statin at lowest dose, intermittent (i.e. non-daily) dosing of a highly efficacious statin, or the use of other lipid lowering medications.

*Patients with muscle symptoms and elevated serum creatine kinase levels ( $>4\times$  upper limit of normal).* For patients at low CVD risk who have symptoms with CK  $>4\times$  ULN, the statin should be stopped and the need for statin reassessed. If considered important, a lower dose of an alternative statin should be tried and CK monitored. For patients at high CVD risk with muscle symptoms and a CK of  $>4\times$  ULN (but  $<10\times$  ULN), statin therapy can be continued with concomitant monitoring of CK, but stopped (at least temporarily) if the levels exceed  $10\times$  ULN. In this case, that particular statin regimen should not be restarted. If CK levels decrease after stopping the statin, restarting at a lower statin dose with CK monitoring should be tried. If, however, CK elevation persists, there may be an underlying myopathy), and referral to a neuromuscular specialist should be considered. In patients with a CK  $>10\times$  ULN for which no secondary cause (e.g. exercise) can be found, statin therapy should be stopped because of the potential risk of rhabdomyolysis. If the CK level subsequently returns to normal, re-challenge with a lower dose of an alternative statin and careful monitoring of symptoms and CK may be considered. If rhabdomyolysis is suspected, statin should not be reintroduced. Rhabdomyolysis should be considered if there is severe muscular pain, general weakness and signs of myoglobinemia or myoglobinuria. These patients, and those with very high CK levels (e.g.  $>40\times$  ULN), should be referred for evaluation of renal damage (urinalysis, serum creatinine levels). Intravenous hydration and urine alkalisation are recommended for the treatment of rhabdomyolysis depending on severity and the

presence of kidney injury [10]. If indicated, non-statin LDL-C lowering agents should be used.

*Current therapy for patients with statin-associated muscle symptoms. Statin-based therapies.* If symptoms/CK abnormalities resolve after discontinuation of statin, either treatment with the same statin at a lower dose or switching to an alternative statin should be considered. If tolerated, doses can be up-titrated to achieve LDL-C goal, or as much LDL-C reduction that can be achieved with minimal muscle complaints. If these strategies are not tolerated, alternate day or twice-weekly dosing can be considered to achieve the LDL-C goal. Despite methodological limitations (small size, retrospective, open label, or non-randomized design), studies have shown that either alternate day or twice-weekly dosing strategies can reduce LDL-C by 12–38%, and, importantly, are tolerated by 70% of previously intolerant patients [7]. Generally, lower doses of a high intensity statin with a long half-life (atorvastatin, rosuvastatin, and pitavastatin) are more appropriate.

*Non-statin based lipid-lowering therapy.* If LDL-C remains above target despite maximally tolerated statin dosage, addition of an alternative LDL-C lowering agent should be considered in patients at high CVD risk to improve LDL-C reduction [7,33]. Ezetimibe reduces LDL-C by 15–20%, is easy to take with few side effects [29] and has been shown to reduce CVD events [15]. In patients with SAMS, the combination of ezetimibe plus fluvastatin XL reduced LDL-C by 46% and was as well tolerated as ezetimibe alone [35]. Bile acid sequestrants can reduce LDL-C levels by 15–25% depending on the type and dose used, and may also improve glycaemia in patients with diabetes [18,22]. Colesevelam is easier to take and better tolerated than earlier formulations. The combination of a bile acid sequestrant and ezetimibe can reduce LDL-C by 30–35%. Fenofibrate can lower LDL-C by 15–20% in patients with high baseline levels who do not have concomitant hypertriglyceridaemia [39]. This fibrate is easy to take, and has shown an excellent safety record in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes and Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes trials, although additional CVD benefit has not been demonstrated, and serum creatinine was reversibly increased during treatment [8,40] Unlike gemfibrozil, there is no increased risk of rhabdomyolysis when fenofibrate is added to a statin. [21] Niacin also lowers LDL-C levels by 15–20% [16], but recent large randomized trials showed a significant excess of adverse effects and no significant CVD benefit when added to background statin treatment; therefore, niacin derivatives are no longer available for prescription in Europe [9,23]. Physicians and health care professionals should therefore consider the use of ezetimibe as first choice, potentially followed by bile acid sequestrants or fibrates in combination with ezetimibe, as needed to achieve LDL-C lowering consistent with guidelines.

*Nutraceuticals.* In addition to adoption of a low saturated fat diet and avoidance of trans fats, consumption of viscous fibre (mainly psyllium, 10 g daily) and foods with added

plant sterols or stanols (2 g daily) has also been shown to reduce LDL-C by 7% and 10%, respectively [11,41]. The Portfolio diet, incorporating plant sterols, soya protein, viscous fibres, and nuts, has the potential to reduce LDL-C levels by 20–25%. This Panel believes that these approaches are appropriate either alone or in association with statin or non-statin drug regimens in patients with SAMS.

*Complementary therapies.* A number of complementary therapies, including ubiquinone (coenzyme Q10 [CoQ10]) and vitamin supplementation, have been suggested to improve statin tolerability. A double-blind RCT and a meta-analysis [11,41] however, failed to substantiate that CoQ10, even at high doses, reduced symptoms in patients with SAMS. Evidence for the effectiveness of vitamin D is also controversial [12–26] although many patients with SAMS are found to have low blood levels of vitamin D. Red yeast rice (*Monascus purpureus*) is a fermented product that has been shown to reduce LDL-C levels by 20–30% in short-term RCTs [27]. This effect is partly due to the presence of monacolin K, a product similar to lovastatin that inhibits hepatic cholesterol synthesis, as well as plant sterols that reduce cholesterol absorption. While recent data suggest that red yeast rice is an effective, well-tolerated approach [24], there remain a number of outstanding issues, including the lack of robust evidence that red yeast rice is efficacious and tolerated in the long term, lack of standardization with variable drug bioavailability in different preparations, and possible toxic effects due to contaminants. Furthermore, red yeast rice may also elicit SAMS because of the statin-like content. Long-term, rigorously designed RCTs are needed before red yeast rice could be recommended to patients with increased CVD risk.

## REFERENCES

1. Australian Medical Handbook. Statins. Adelaide: Australian Medicines Handbook Pty Ltd, 2017. (accessed 23 February 2017).
2. Ahmad Z. Statin intolerance // *Am J Cardiol* 2014;113:1765–71.
3. Armitage J. The safety of statins in clinical practice // *Lancet* 2007;370:1781–1790.
4. Armitage J, Baigent C, Collins R. Misrepresentation of statin safety evidence // *Lancet* 2014;1263–1264.
5. Ahmad Z. Statin intolerance // *Am J Cardiol* 2014;113:1765–1771.
6. Alfirevic A, Neely D, Armitage J, Chinoy H, Cooper RG, Laaksonen R, Carr DF, Bloch KM, Fahy J, Hanson A, Yue QY, Wadelius M, Maitland-van Der Zee AH, Voora D, Psaty BM, Palmer CN, Pirmohamed M. Phenotype standardization for statin-induced myotoxicity // *Clin Pharmacol Ther* 2014;96:470–476.
7. Athyros VG, Tziomalos K, Kakafika AI, Koumaras H, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Effectiveness of ezetimibe alone or in combination with twice a week atorvastatin (10 mg) for statin intolerant high-risk patients // *Am J Cardiol* 2008;101:483–485.
8. ACCORD Study Group, Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, Crouse JR III, Leiter LA, Linz P, Friedewald WT, Buse JB, Gerstein HC, Probstfield J, Grimm RH, Ismail-Beigi F, Bigger JT, Goff DC Jr, Cushman WC, Simons-Morton DG, Byington RP. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus // *N Engl J Med* 2010;362:1563–1574.
9. AIM-HIGH Investigators, Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes-Nickens P, Koprowicz K, McBride R, Teo K, Weintraub W. Niacin in patients with low HDL

- cholesterol levels receiving intensive statin therapy // *N Engl J Med* 2011;365:2255–2267.
10. Bosch X, Poch E, Grau JM. Rhabdomyolysis and acute kidney injury // *N Engl J Med* 2009;361:62–72.
  11. Banach M, Serban C, Sahebkar A, Ursoniu S, Rysz J, Muntner P, Toth PP, Jones SR, Rizzo M, Glasser SP, Lip GYH, Dragan S, Mikhailidis DP, Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration (LBPMC) Group. Effects of Coenzyme Q10 on statin-induced myopathy: a meta-analysis of randomized controlled trials // *Mayo Clinic Proc* 2015;90:24–34.
  12. Bookstaver DA, Burkhalter N, Hatzigeorgiou C. Effect of Coenzyme Q10 supplementation on statin-induced myalgias // *Am J Cardiol* 2012;110:526–529.
  13. Collins R, Reith C, Emberson J, et al. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy // *Lancet* 2016;388:2532–61.
  14. Chou R, Dana T, Blazina I, et al. Statins for Prevention of Cardiovascular Disease in Adults: Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force // *JAMA* 2016;316:2008–24.
  15. Cannon CP, IMPROVE-IT Investigators. IMPROVED Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial. A multicenter, double-blind, randomized study to establish the clinical benefit and safety of Vytorin (ezetimibe/simvastatin tablet) vs simvastatin monotherapy in high-risk subjects presenting with acute coronary syndrome. <http://myamericanheart.org/icc> 22 November 2014).
  16. Capuzzi DM, Guyton JR, Morgan JM, Goldberg AC, Kreisberg RA, Brusco OA, Brody J. Efficacy and safety of an extended-release niacin (Niaspan): a long-term study // *Am J Cardiol* 1998;82:74U–81U.
  17. Caso G, Kelly P, McNurlan MA, Lawson WE. Effect of Coenzyme Q10 on myopathic symptoms in patients treated with statins // *Am J Cardiol* 2007;99:1409–1412.
  18. Davidson MH, Dillon MA, Gordon B, Jones P, Samuels J, Weiss S, Isaacsohn J, Toth P, Burke SK. Colesevelam hydrochloride (cholestagen): a new, potent bile acid sequestrant associated with a low incidence of gastrointestinal side effects // *Arch Intern Med* 1999;159:1893–1900.
  19. Fitchett DH, Hegele RA, Verma S. Cardiology patient page. Statin intolerance // *Circulation* 2015;131:389–91.
  20. Ganga HV, Slim HB, Thompson PD. A systematic review of statin-induced muscle problems in clinical trials // *Am Heart J* 2014;168:6–15.
  21. Guo J, Meng F, Ma N, Li C, Ding Z, Wang H, Hou R, Qin Y. Meta-analysis of safety of the coadministration of statin with fenofibrate in patients with combined hyperlipidemia // *Am J Cardiol* 2012;110:1296–1301.
  22. Heel RC, Brogden RN, Pakes GE, Speight TM, Avery GS. Colestipol: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in patients with hypercholesterolaemia // *Drugs* 1980;19:161–180.
  23. HPS2-THRIVE Collaborative Group. HPS2-THRIVE randomized placebo-controlled trial in 25 673 high-risk patients of ER niacin/laropiprant: trial design, prespecified muscle and liver outcomes, and reasons for stopping study treatment // *Eur Heart J* 2013;34:1279–1291.
  24. Li Y, Jiang L, Jia Z, Xin W, Yang S, Yang Q, Wang L. A meta-analysis of red yeast rice: an effective and relatively safe alternative approach for dyslipidemia // *PLoS One* 2014; 9:e98611.
  25. Mancini GB, Tashakkor AY, Baker S, et al. Diagnosis, prevention, and management of statin adverse effects and intolerance: Canadian Working Group Consensus update // *Can J Cardiol* 2013;29:1553–68.
  26. Michalska-Kasiczak M, Sahebkar A, Mikhailidis DP, Rysz J, Muntner P, Toth PP, Jones SR, Rizzo M, Kees Hovingh G, Farnier M, Moriarty PM, Bittner VA, Lip GY, Banach M; Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration (LBPMC) Group. Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration (LBPMC) Group. Analysis of vitamin D levels in patients with and without statin-associated myalgia – a systematic review and meta-analysis of 7 studies with 2420 patients // *Int J Cardiol* 2014;178C:111–116.
  27. Mannarino MR, Ministrini S, Pirro M. Nutraceuticals for the treatment of hypercholesterolemia // *Eur J Intern Med* 2014;25:592–599.
  28. Nissen SE, Stroes E, Dent-Acosta RE, et al. efficacy and tolerability of evolocumab vs ezetimibe in patients with muscle-related statin intolerance: The GAUSS-3 Randomized Clinical Trial // *JAMA* 2016;315:1580–90.
  29. Norata GD, Ballantyne CM, Catapano AL. New therapeutic principles in dyslipidaemia: focus on LDL and Lp(a) lowering drugs. *Eur Heart J* 2013;34:1783–1789.
  30. Pasternak RC, Smith SC Jr, Bairey-Merz CN, Grundy SM, Cleeman JI, Lenfant C. ACC/AHA/NHLBI clinical advisory on the use and safety of statins // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002; 40(3), 567–572.
  30. Pasternak RC, Smith SC Jr, Bairey-Merz CN, Grundy SM, Cleeman JI, Lenfant C. ACC/AHA/NHLBI clinical advisory on the use and safety of statins // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002; 40(3), 567–572.
  31. Parker BA, Capizzi JA, Grimaldi AS, et al. Effect of statins on skeletal muscle function // *Circulation* 2013;127:96–103.
  32. Rosenson RS, Baker SK, Jacobson TA, et al. An assessment by the Statin Muscle Safety Task Force: 2014 update // *J Clin Lipidol* 2014;8:S58–71.
  33. Reddy KJ, Singh M, Batsell RR, Bangit JR, Zaheer MS, John S, Varghese S, Molinella R. Efficacy of combination drug pulse therapy in maintaining lipid levels in patients intolerant of daily statin use. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2009;11:766–768.
  34. Stroes ES, Thompson PD, Corsini A, et al. Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy-European Atherosclerosis Society Consensus Panel Statement on Assessment, Aetiology and Management // *Eur Heart J* 2015;36:1012–22.
  35. Stein EA, Ballantyne CM, Winder E, Sirnes PA, Sussekov A, Yigit Z, Seper C, Gimpelewicz CR. Efficacy and tolerability of Fluvastatin XL 80 mg alone, ezetimibe alone and the combination of Fluvastatin XL 80 mg with ezetimibe in patients with a history of muscle-related side effects with other statins: a randomized, double-blind, double-dummy trial // *Am J Cardiol* 2008;101:490–496.
  36. Joy TR, Hegele RA. Narrative review: statin-related myopathy // *Ann. Intern. Med.* 2009; 150(12): 858–868.
  37. Therapeutic Guidelines (eTG). Pharmacological management of dyslipidaemia. Melbourne: Australian Therapeutic Guidelines, 2012. (accessed 7 March 2017).
  38. Keating AJ, Campbell KB, Guyton JR. Intermittent nondaily dosing strategies in patients with previous statin-induced myopathy // *Ann Pharmacother* 2013;47: 398–404.
  39. Knopp RH, Brown WV, Dujovne CA, Farquhar JW, Feldman EB, Goldberg AC, Grundy SM, Lasser NL, Mellies MJ, Palmer RH. Effects of fenofibrate on plasma lipoproteins in hypercholesterolemia and combined hyperlipidemia // *Am J Med* 1987;83: 50–59.
  40. Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, Forder P, Pillai A, Davis T, Glasziou P, Drury P, Kesa-niemi YA, Sullivan D, Hunt D, Colman P, d’Emden M, Whiting M, Ehnholm C, Laakso M; FIELD study investigators. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial // *Lancet* 2005;366: 1849–1861.
  41. Taylor BA, Lorson L, White CM, Thompson PD. A randomized trial of Coenzyme Q10 in patients with confirmed statin myopathy // *Atherosclerosis* 2015;238: 329–335.
  42. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW. Vitamin D and muscle function // *Osteoporos Int* 2012;13:187–194.



## SUMMARY

### STATIN-ASSOCIATED INTOLERANCE AND ITS PREVENTION

**Karsanidze A., Antelava N., Gorgasledze N., Ghonghadze M., Okudzhava M., Pachkoria K.**

*Tbilisi State Medical University, Department of Pharmacotherapy, Georgia*

The review analyzes the literature data, which covers the intolerance of statins associated with myopathy. The article gives a definition of statin intolerance, analyzed data from a randomized, controlled trials, where are indicated frequency of statin-associated myopathy, its symptoms in juxtaposition with an increase in creatine kinase activity. It is noted that the frequency of complications depends on the applied statin, its dose, duration, the use of other risk factors that contribute to the development of myopathy. It is indicated that polypharmacy - the joint use of statins with such drugs as anti-inflammatory (glucocorticoids), immunosuppressants (cyclosporine), antipsychotics, antiviral (protease inhibitors), macrolides, antifungal, lipid modifying (gemfibrozole), cytochrome P450 inhibitors and substances causing dependence (alcohol, opioids) may contribute to the development of statin-associated myopathy. Risk factors are also age over 75 years, low body mass index, female gender, high level of physical activity, multi-system diseases - hypothyroidism, diabetes, infections, hepatic dysfunction, biliary obstruction, organ transplantation, severe injuries, hypovitaminosis D, metabolic lesions, etc. Methods of therapy of patients with statin-associated myopathy, namely, dose changes, duration of administration, regimen of application (twice a week instead of daily), replacement of the drug and the use of other lipid-lowering agents, as well as nutritional and complementary therapy are considered.

**Keywords:** statin-associated myopathy, risk factors, statin intolerance, therapy.

## РЕЗЮМЕ

### СТАТИН-АССОЦИИРОВАННАЯ ИНТОЛЕРАНТНОСТЬ И ЕЁ ПРОФИЛАКТИКА

**Карсанидзе А.Г., Антелави Н.А., Горгаслидзе Н.С., Гонгадзе М.В., Окуджава М.В., Пачкорია К.З.**

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент фармакотерапии, Грузия*

В обзоре проанализированы данные литературы, освещающие вопросы интолерантности статинов, связанной с миопатией. Представлена дефиниция ста-

тиновой интолерантности, проанализированы данные рандомизированных, контролируемых исследований, в которых указана частота статин-ассоциированной миопатии, её симптомы в сопоставлении с увеличением креатин-киназной активности. Отмечается зависимость частоты осложнений от вида применяемого статина, его дозы, продолжительности использования, наличия других факторов риска, способствующих развитию миопатии. Указано, что полипрагмазия – совместное применение статинов с такими препаратами, как противовоспалительные (глюкокортикоиды), иммуносупрессанты (циклоспорин), антипсихотические, противовирусные (ингибиторы протеаз), макролиды, притивогрибковые, липидо-модифицирующие (гемфиброзол), ингибиторы цитохрома P450 и с веществами, вызывающими зависимость (алкоголь, опиоиды) может способствовать развитию статин-ассоциированной миопатии. Риск-факторами являются также возраст более 75 лет, низкий индекс массы тела, женский пол, высокий уровень физической нагрузки, мультисистемные заболевания – гипотиреозидизм, диабет, инфекции, печеночная дисфункция, билиарная обструкция, трансплантация органов, тяжёлые травмы, гиповитаминоз D, хирургические операции с тяжелыми метаболическими повреждениями. Рассматриваются методы терапии больных статин-ассоциированной миопатией, а именно изменения дозы, продолжительности применения, режима применения (два раза в неделю вместо ежедневного), замена препарата и применение других липидоснижающих средств, а также нутрицевтиков и комплементарной терапии.

## რეზიუმე

სტატინებით გამოწვეული არასასურველი ეფექტები და მათი პროფილაქტიკა

ა. კარსანიძე, ნ. ანთელავა ნ. გორგასლიძე, მ. ღონღაძე, მ. ოკუჯავა, ქ. პაჩკორია

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ფარმაკოთერაპიის დეპარტამენტი, საქართველო

მიმოხილვაში წარმოდგენილია, ლიტერატურული მონაცემების საფუძველზე, მიოპათიასთან დაკავშირებული სტატინების არატოლერანტობის საკითხების ანალიზი. სტატინებში მოცემულია სატტინური არატოლერანტობის დეფინიცია, გაანალიზებულია რანდომიზებული, კონტროლირებადი კვლევები, რომელშიც მოცემულია სტატინებთან დაკავშირებული მიოპათიის სიხშირე, მისი სიმპტომები კრეატინკინაზური აქტივობის ზრდასთან მიმართებაში. აღნიშნულია, რომ გართულებების სიხშირე დამოკიდებულია სტატინის მიღების სიხშირეზე, დოზაზე, ხანგრძლივობაზე, სხვა რისკ-ფაქტორებზე, რომლებიც ხელს



უწყობენ მიოპათიის განვითარებას. აღნიშნულია, რომ პოლიპრაგმაზია – სტატინების მიღება ისეთ პრეპარატებთან ერთად, როგორცაა ანთების საწინააღმდეგო (გლუკოკორტიკოიდები), იმუნოსუპრესანტები (ციკლოსპორინი), ანტიფსიქოზური, ანტივირუსული (პროტეაზას ინჰიბიტორი), მაკროლიდები, სოკოს საწინააღმდეგო, ლიპიდო-მამოდიფიცირებელი (გემფიბროზოლი), ციტოქრომ 450 ინჰიბიტორები და იმ ნივთიერებებთან ერთად, რომლებიც იწვევენ დამოკიდებულებას (ალკოჰოლი, ოპიოიდები), ხელს უწყობს სტატინებთან დაკავშირებული მიოპათიის განვითარებას. რისკ-ფაქტორად ითვლება ასევე ასაკი 75 წელზე ზევით, სხეულის მასის დაბალი ინდექ-

სი, მდედრობითი სქესი, ფიზიკური დატვირთვის მაღალი დონე, მულტისისტემური დაავადებები – ჰიპოთირეოდიზმი, დიაბეტი, ინფექციები, ღვიძლის დისფუნქცია, ბილიარული ობსტრუქცია, ორგანოების გადანერგვა, მძიმე ტრავმები, - ჰიპოვიტამინოზი, ქირურგიული ოპერაციები მძიმე მეტაბოლური დაზიანებით. განხილულია სტატინებთან ასოცირებული მიოპათიით დაავადებულების თერაპიის მეთოდები; დოზის ცვლილება, მიღების ხანგრძლივობა და რეჟიმი (კვირაში ორჯერ, ყოველდღიურად მიღების ნაცვლად), პრეპარატის ცვლილება და სხვა ლიპიდდამწვევი საშუალებების მიღება, ასევე, ნუტრიციტიკების და კომპლემენტარული თერაპიის გამოყენება.

---

## DYNAMICS OF INDICATORS OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN RESPONSE TO THE APPLICATION OF SODIUM POLY-(2.5- DIHYDROXYPHENILEN)-4- THIOSULFATE ACID IN EXPERIMENTAL ACUTE KIDNEY INJURY

Iermolenko T., Krivoschapka A, Shapoval O.

*Kharkiv National Medical University, Ukraine*

It is known that acute kidney injury (AKI) often leads to death of patients with ischemic injuries and organ diseases leading to accumulation of nephrotoxins [26-28, 34, 35]. Thus, a number of writers has showed that 5-7% of hospitalized patients are developing AKI [34,35]. In the United States the mortality of patients with AKI constitutes 45-70%, and the cost of their treatment constitutes 10 billion US dollars [26-28]. These trends indicate that the existing arsenal of methods of treatment of AKI does not satisfy completely the needs of public health, which is a medical and social problem of various countries. The development of new treatment technologies and the creation of medicinal products, which possess nephroprotective properties, is relevant for practical medicine throughout the world.

It is proved nowadays that one of the main pathogenetic links of acute kidney injuries is a disturbance of the balance of processes of lipid peroxidation and antioxidant protection of cell membranes, and it is considered to be one of the leading links of the cellular mechanism of damage to local hemodynamics and glomerular filtration [16, 26, 29]. Therefore, a potential drug for treatment of the acute kidney injury within the mechanism of its nephroprotective action, along with membrane-stabilizing, anti-inflammatory, antihypoxic activity, must have antioxidant and antiradical action.

Sodium salt of poly (2.5-dihydroxyphenylene)-4-thiosulphonic acid (PDT-Na) with proven antihypoxic activity can become such a promising drug [6, 7, 9, 12, 13, 31, 32]. From the studies conducted previously we have found out that PDT-Na (90 mg/kg daily for 14 days intragastrically) has nephroprotective effect in acute renal

failure of various genesis, which has been manifested by restoration of diuresis, blood and urine creatinine, urea and protein content, normalization of the glomerular filtration rate and tubular reabsorption rates, equal to the effects of the comparator, hophitol (1.36 ml/kg in the same regime). PDT-Na has also normalized significantly the level of the main serum enzymes (LDH, GGT, APF) and electrolyte blood composition in comparison with the reference drugs: mexidol, hofitol and thiotriazolin, that confirms the nephroprotective effect of the investigated drug [6,7,9,12,13,31,32].

The nephroprotective effect of PDT-Na, proved by the experiment, suggests that it has antioxidant and anti-radical properties. Therefore, the purpose of this research is to study the effect of antihypoxant with the established nephroprotective activity of PDT-Na on the state of peroxidic oxygenation of lipids and antioxidant protection in rats by three models of AKI (ethylene glycol, glycerol, gentamicin).

Material and methods. The studies were conducted on 96 white mature, full-grown non-linear rats of both sexes weighing 150-170 grams. The studies were conducted in the laboratory of the Department of Pharmacology and Medical Recipe of KhNMU. All experiments were carried out in accordance with EU Directive 86/609 EEC dated 24 November 1986 on the observance of laws, regulations and administrative provisions of the EU Member States on animal welfare, which are used for experimental and other scientific purposes (Strasbourg, 1986), and in accordance with methodical recommendations of the State Expert Center of the Ministry of Health of Ukraine (Minutes

No.9 of the meeting of the Ethics and Bioethics Committee of KhNMU dated 03.12.2014) [5,14,30].

According to the study design of nephroprotective activity of PDT-Na, we have applied modern and the most informative models of acute toxic kidneys injury of different genesis: glycerol (myoglobinuric) AKI, ethylene glycol AKI and gentamicin nephropathy. These models reflect the main links in the pathogenesis of AKI, and they are easily reproduced in the laboratory, suitable for both screening and in-depth studies of potential nephroprotective agents [10, 11, 33, 36].

In this study, the activity of the processes of lipid peroxidation (LPO) and antioxidant protection in the blood and kidney homogenate of laboratory animals with glycerol ARF, ethylene glycol ARF, and gentamicin nephropathy was assessed. The animals were divided into 16 groups (5 groups per model and one intact group) of 6 rats in each group: the animals of the experimental, reference and control pathology groups (1) received the corresponding nephrotoxin. In each model the groups of rats received the following treatment: experimental (2) - PDT-Na, reference - mexidol (3), hofitol - (4) and thiotriazolin (5). At the end of the study, the animals were withdrawn from the experiment by decapitation under thiopental sodium narcosis (40 mg/kg). The blood was taken and kidneys were removed to prepare biological substrates for further biochemical studies [5,36]. The state of the LPO process was assessed by the content of diene conjugates (DC) and TBA-active products (TBA-AP) in the blood and kidney homogenate [2,21,22]. The state of the antioxidant system was assessed by the activity of antioxidant defence of enzymes catalase (CT), superoxide dismutase (SOD) and the content of groups of sulfhydryl (GSH) in blood and kidney homogenate of the animals with AKI [2,17].

The DC content was determined after extraction of lipids by a mixture of heptane in isopropyl alcohol [22]. The DC concentration was expressed in  $\mu\text{mol/g}$  of protein (in the kidney homogenate) and  $\mu\text{mol/L}$  (in blood). The content of TBA-AP was determined by reaction with 2-thiobarbituric acid (TBA). The principle of the method is the ability of TBA to react with lipoperoxides, amino acids, carbohydrates, but the main product of this interaction is TBA-AP [21, 22]. The concentration of TBA-AP was expressed in  $\mu\text{mol/mg}$  of protein (in the kidney homogenate) or in  $\mu\text{mol/L}$  in serum [21].

The activity of CT was determined spectrophotometrically. The principle of the method is that CT destroys the substrate -  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; the amount of undissolved hydrogen peroxide was measured by ammonium molybdate, which along with hydrogen peroxide forms a stable coloured complex. The enzyme activity in tissue homogenate was expressed in  $\mu\text{mol}/(\text{min}\times\text{mg}$  of protein), in hemolysate of blood – in  $\mu\text{mol}$  of  $\text{H}_2\text{O}_2/(\text{min}\times\text{L})$  [2].

The activity of SOD was determined spectrophotometrically. Its activity was expressed in relative units (RU). In the tissue of the kidneys it was expressed in RU/mg of protein; in the blood – in RU/mL [2].

The content of GSH was determined in serum ac-

ording to the method developed by I.F. Meschishen and N.P.Grigrorieva [17]. The principle of the method is the interaction of 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (Elman reagent) with free SH-groups to form a thionitrophenyl anion, the amount of which is directly proportional to the content of SH-groups. The SH-group content was expressed in  $\mu\text{mol/mL}$ .

The obtained results of the study were processed by standard method in biomedical studies, i.e. the variation statistics method, using the computer program "Statistica 6.0". T-test of Student was applied to assess the reliability of the obtained results ( $p<0.05$ ). A comparison of the obtained data was carried out between groups 2-1; 3-1,2,4; 4-1,2 of each model of the experiment [5].

Results and their discussion. *Determination of indicators of oxidative stress*

The state of lipid peroxidation in rats against the background of three models of AKI, affected by the investigated drug PDT-Na and reference drugs, was assessed by the level of lipid peroxidation products in the blood and in the kidney homogenate. Primary products of LPO-diene conjugates (DC) and secondary or final products of LPO-malonic aldehyde (MA or TBA-active products) [28,36].

Hydrogen is separated in the  $\alpha$ -position with respect to the double bond under the process of free radical oxidation of arachidonic acid; that causes the displacement of this double bond with the formation of lipoperoxides or DC [3]. Diene conjugates refer to toxic metabolites, which have a harmful effect on lipoproteins, proteins, enzymes and nucleic acids. Lipoperoxides are highly unstable and are subject to further oxidative degeneration. Secondary oxidation products are accumulated. Unsaturated aldehydes (malonic dialdehyde or TBA-active products (TBA-AP) are the most important of secondary oxidation products. According to F.A. Tugusheva and others (2007, 2009), the manifestation of oxidative stress is detected in the early stages of chronic kidney disease, and it has one of the key values in the development of renal disease [23, 24]. Malonic aldehydes (TBA-AP) are formed only from fatty acids with three or more double bonds participating in the synthesis of prostaglandins, progesterone and other of their steroids [3]. The negative role of malonic dialdehyde is the following: it crosslinks lipid molecules and reduces the density of the membrane. As a result, the membrane becomes more fragile. The following processes associated with changing the surface of the membrane are been destroyed: phagocytosis, pinocytosis, cell migration and etc.

Hydroperoxides, unsaturated aldehydes are mutagens and have frank cytotoxicity. They suppress the activity of glycolysis and oxidative phosphorylation, inhibit the synthesis of protein and nucleic acids, disrupt the secretion of triglycerides by hepatocytes, inhibit the activity of membrane-binding enzymes. The accumulation of the products of LPO (DC, TBA-AP) [3] leads to stimulation of monooxygenase system, change of reaction of lipid, hormonal, immune, microelemental, neurotransmitter statuses, depletion of antioxidant system, that affects the functioning of organs and systems, including the kidneys [3].

The results of the study of DC level and TBA-AP in the blood and kidney homogenate of intact and experimental animals against the background of three models of acute renal failure (ARF) are given in Tables 1-4.

Table 1. The PDT-Na and reference drugs interaction on the level of DC ( $\mu\text{mol/L}$ ) in rat blood under AKI conditions ( $M\pm m, n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		48.86 $\pm$ 4.08		
Control (ARF)		69.81 $\pm$ 3.84*	79.18 $\pm$ 3.56*	72.80 $\pm$ 4.12*
Experiental (ARF + PDT-Na)		54.36 $\pm$ 3.03**	52.66 $\pm$ 3.12**	56.42 $\pm$ 3.36**
Reference (ARF + mexidol)		58.42 $\pm$ 3.26**	60.28 $\pm$ 3.88**	62.36 $\pm$ 3.74**
Reference (ARF + hofitol)		62.24 $\pm$ 4.02*/**	66.34 $\pm$ 3.48*/**	64.24 $\pm$ 3.06*/**
Reference (ARF + thiotriazolin)		56.16 $\pm$ 3.28**	55.04 $\pm$ 4.14**	58.12 $\pm$ 3.68**

Table 2. The PDT-Na and reference drugs interaction on the level of DC ( $\mu\text{mol/g}$ ) in kidney homogenate of rats under AKI conditions ( $M\pm m, n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		4.27 $\pm$ 0.28		
Control (ARF)		7.56 $\pm$ 0.64*	9.66 $\pm$ 0.56*	8.62 $\pm$ 0.44*
Experiental (ARF + PDT-Na)		5.36 $\pm$ 0.34**	4.92 $\pm$ 0.32**	6.54 $\pm$ 0.52**
Reference (ARF + mexidol)		5.98 $\pm$ 0.52**	5.44 $\pm$ 0.68**	7.44 $\pm$ 0.42**
Reference (ARF + hofitol)		6.16 $\pm$ 0.36*/**	6.86 $\pm$ 0.46*/**	7.38 $\pm$ 0.46*/**
Reference (ARF + thiotriazolin)		5.66 $\pm$ 5.28**	5.22 $\pm$ 0.62**	6.92 $\pm$ 0.54**

note: \* – the indicator deviation is reliable relatively to the intact control,  $p < 0.05$ ;

\*\* – the indicator deviation is reliable relatively to the control (ARF),  $p < 0.05$

Table 3. The PDT-Na and reference drugs interaction on the level of TBA-AP ( $\mu\text{mol/L}$ ) in rat blood under AKI conditions ( $M\pm m, n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		10.24 $\pm$ 2.32		
Control (ARF)		18.48 $\pm$ 2.88*	24.52 $\pm$ 3.24*	21.26 $\pm$ 2.72*
Experimental (ARF + PDT-Na)		12.22 $\pm$ 2.42**	13.74 $\pm$ 3.18**	14.34 $\pm$ 3.04**
Reference (ARF + mexidol)		12.84 $\pm$ 3.08**	16.16 $\pm$ 3.02**	15.02 $\pm$ 2.92**
Reference (ARF + hofitol)		14.28 $\pm$ 2.94*/**	16.38 $\pm$ 3.46*/**	16.16 $\pm$ 3.08*/**
Reference (ARF + thiotriazolin)		13.26 $\pm$ 3.26**	13.42 $\pm$ 3.22**	14.84 $\pm$ 2.12**

Table 4. The PDT-Na and reference drugs interaction on the level of TBA-AP ( $\mu\text{mol/g}$ ) in kidney homogenate of rats under AKI conditions ( $M\pm m, n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		25.27 $\pm$ 3.32		
Control (ARF)		44.38 $\pm$ 4.12*	58.24 $\pm$ 3.88*	48.56 $\pm$ 4.44*
Experimental (ARF + PDT-Na)		24.64 $\pm$ 3.96**	27.38 $\pm$ 5.54**	29.22 $\pm$ 4.16**
Reference (ARF + mexidol)		26.76 $\pm$ 4.08**	33.76 $\pm$ 5.56**	32.82 $\pm$ 3.94**
Reference (ARF + hofitol)		35.42 $\pm$ 4.24*/**	41.78 $\pm$ 5.38*/**	39.14 $\pm$ 4.08*/**
Reference (ARF + thiotriazolin)		25.92 $\pm$ 4.76**	29.36 $\pm$ 5.04**	31.88 $\pm$ 4.46**

note: \* – the indicator deviation is reliable relatively to the intact control,  $p < 0.05$ ;

\*\* – the indicator deviation is reliable relatively to the control (ARF),  $p < 0.05$

Analysis of the obtained results, which characterize the state of LPO in blood and in kidney homogenate of rats with ethylene glycol of AR, indicates that the introduction of ethylene glycol into experimental animals activates LPO processes. It was reflected in the increase in the level of the primary products of LPO – DC and the final ones – TBA-AP (Tables 1-4).

It has been established that under the action of ethylene glycol reliable in relation to intact control, the level of DC in rat blood increased by 1.5 times (Table 1) and in the kidney homogenate – by 1.8 times (Table 2). Similar dynamics was observed with respect to TBA-AP, as indicated by the reliable in relation to intact control, the level of TBA-AP increased in the blood of rats by 1.8 times (Table 3) and in the kidney homogenate – by 1.75 times (Table 4). So, ethylene glycol causes the accumulation of primary and final products of LPO in the blood and kidney tissues, which characterizes the manifestation of oxidative stress in renal failure and it is important in the development of chronic renal disease.

The application of the investigated drug PDT-Na and the reference drug mexidol leads to the normalization of the functional state of kidneys and the activity of LPO. This conclusion is based on the value of the content of primary and final products of LPO of DC and TBA-AP in the blood and kidney homogenate, which do not differ from those of the intact control group (Tables 1-4).

The antioxidant activity of PDT-Na and mexidol and their ability to suppress the accumulation of primary and final products of LPO is indicated by the reliable relatively to the control group (ARF) the reduction in blood and kidney homogenate of the level of DC and TBA-AP. So, affected by PDT-Na, in comparison with the control, the level of DC and TBA-AP reduced in blood by 1.3 times and 1.5 times respectively (Table 1,2) and in the kidney homogenate – by 1.4 times and 1.8 times respectively (Table 3,4). Similar dynamics was observed under the affect of mexidol: in comparison with the control, the level of DC and TBA-AP in the blood decreased by 1.2 times and 1.4 times respectively (Tables 1-2) and in the kidney homogenate – by 1.3 times and 1.7 times respectively (Tables 3,4).

Our studies have also confirmed the pronounced antioxidant activity of the reference drug thiotriazolin [15,19,25], which under the conditions of ethylene glycol ARF suppressed the activity of LPO processes almost to the intact level. So, in comparison with the control (AKI), thiotriazolin significantly decreased the level of DC and TBA-AP in the blood – by 1.2 times and by 1.4 times respectively (Tables 1,2) and in the kidney homogenate – by 1.3 times and 1.7 times respectively (Tables 3,4).

The comparator, hofitol, being a herbal medicinal product with nephroprotective activity, showed less antioxidant activity than synthetic drugs PDT-Na: mexidol and thiotriazolin. Thus, under the affect of hofitol, a significant decrease in DC in blood and kidney homogenate was observed in comparison with the control (ARF) by

1.2 times (Table 1) and by 1.3 times respectively (Table 2), TBA-AP in blood and kidney homogenate by 1.3 times (Table 3) and by 1.25 times (Table 4) respectively.

Considering that glycerol is a more potent nephro- and membranotoxin, one of the mechanisms of its action is the activation of processes of lipid peroxidation; we have studied the content of blood and kidney tissues of rats of primary and final products of LPO-DC and TBA-AP in the model of glycerol arteries. It has been found out that the introduction of glycerol leads to a significant increase in the level of DC in blood (Table 1) and kidney homogenate (Table 2) of rats by 62% and 126%, respectively, compared with intact animals. Affected by glycerol, there was also a significant increase in the level of final products of LPO TBA-AP in blood (Table 3) and kidney homogenate (Table 4) by 139% and 130%, respectively, compared with the intact control. The results show that within the conditions of the glycerol model of ARF, the activation of LPO processes is more severe than within the conditions of ethylene glycol ARF.

The application of the drug PDT-Na and the mexidol reference drug showed a therapeutic effect; the antioxidant action is an integral part of this effect, as evidenced by their ability to suppress the accumulation of primary and final products of LPO in blood and kidney homogenate of DC and TBA-AP (Tables 1-4). Affected by the PDT-Na, the level of DC in the blood and kidney homogenate decreased significantly by 51% (Table 1) and by 96% (Table 2), respectively, compared with the control and almost to the intact level, and the level of TBA-AP decreased by 78% (Table 3) and by 112% (Table 4), respectively.

Similarly to the action of PDT-Na, the comparator, mexidol showed antioxidant activity. The application of mexidol in comparison with the control to the intact level reduced the DC content in the blood and kidney homogenate by 31% (Table 1) and by 77% (Table 2), respectively, and the content of TBA-AP – by 73% (Table 3) and – by 72% (Table 4), respectively.

The comparator, hofitol, showed antioxidant activity, which was inferior in comparison with PDT-Na and mexidol (Table 1-4). Hofitol contributed significantly to the reduction of DC concentration in blood and kidney homogenate – by 20% (Table 1) and – by 41% (Table 2), respectively, and TBA-AP – by 49% (Table 3) and by 39% (Table 4), respectively, compared with the control (ARF). But, when applying hofitol, LPO activity indexes did not reach intact values and had significant differences from those of the intact control group (Tables 1-4). This confirms our conclusion that PDT-Na and mexidol have an advantage over hofitol in terms of antioxidant activity.

The reference drug thiotriazolin has shown a therapeutic effect similar to PDT-Na and mexidol. The dynamics of LPO activity under the action of thiotriazolin was similar to that of PDT-Na and mexidol (Table 1-4). Thus, in comparison with the control pathology, thiotriazolin significantly contributed to a decrease of DC level in the



blood and kidney homogenate by 44% (Table 1) and by 85% (Table 2), respectively, and TBA-AP – by 82% (Table 3) and by 98% (Table 4), respectively.

The next phase of our research was the study of LPO processes activity and the influence of PDT-Na and reference drugs on them within the terms of gentamicin nephropathy. It has been established that gentamicin activates LPO processes, leading to the accumulation of DC and TBA-AP in the blood and kidneys (Tables 1-4). The results clearly demonstrate the prooxidant effect of gentamicin, which is one of the links in its nephrotoxic effect. Thus, gentamicin in comparison with intact animals increased the accumulation of DC in the blood and kidney homogenate of rats by 1.5 times (Table 1) and 2 times (Table 2), respectively. The level of TBA-AP in the blood and kidney homogenate of rats increased by 2.1 times (Table 3) and 1.92 times (Table 4), respectively, compared with the intact control.

Analysis of the activity of LPO processes in rats, which applied PDT-Na antihypoxants and mexidol against gentamicin nephropathy, showed their pronounced antioxidant effect (Tables 1-4). Thus, PDT-Na promoted a significant decrease of DC content in the blood and kidney homogenate by 1.29 times (Tables 1-2) and by 1.31 times (Tables 1-2), respectively, and TBA-AP – by 1.48 times (Tables 1-2) and 1.66 times (Tables 1-2), respectively, reaching the values of the intact group of animals.

Mexidol showed the same antioxidant activity as PDT-Na. It decreased significantly the DC in the blood and kidney homogenate compared to the control group – by 1.16 times (Tables 1-2) and by 1.31 times (Tables 1-2), respectively, and TBA-AP - by 1.41 times (Tables 1-2) and 1.48 times (Tables 1-2) respectively.

The reference drug, hofitol, as in the previous models (ethylene glycol and glycerol ARF) showed antioxidant activity, which is inferior to PDT-Na and mexidol, up to the values that have significant differences with the intact control group (Tables 1-2). Tables 1-4 show that hofitol causes a significant reduction of the DC level in the blood and kidney homogenate in terms of the control (ARF) – by 1.25 times (Tables 1-2) and 1.17 times (Tables 1-2), respectively, TBA-AP – by 1.32 times (Tables 1-2) and by 1.24 times (Tables 1-2) respectively.

The comparator, thiothiazolin, as well as PDT-Na and mexidol showed significant antioxidant activity under the conditions of gentamicin nephropathy (Tables 1-4). Thiothiazolin is reliable with respect to the control (ARF); it decreased the DC in the blood and kidney homogenate – by 1.25 times (Tables 1-2) and 1.24 times (Table 1-2), respectively, and TBA-AP – by 1.43 times (Tables 1-2) and by 1.52 times (Tables 1-2), respectively.

The results of the study obtained in this part of the work (Tables 1-4) indicate that PDT-Na, mexidol and thiothiazolin showed antioxidant activity at the same level and had an advantage over hofitol in terms of severity of their action.

Determination of antioxidant defence enzymes activity

Powerful multi-component antioxidant system counters the toxic action of reactive oxygen species (ROS) in the body. Specific antioxidant protection is directed just at the reduction and destruction of ROS in tissues both enzymatically and non-enzymatically. Superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, glutathione reductase play an important role among the enzymatic participants of antioxidant protection.

The task of the next phase of our work was to assess the state of antioxidant protection in the blood and kidney homogenate in rats against the background of ARF and under the influence of the studied drug PDT-Na and reference drugs according to the activity of enzymes of antioxidant protection of catalase, SOD and the level of accumulation of SH-groups (GSH).

The antioxidant defence system of a living organism controls and inhibits all the stages of the reactions of formation of free radicals, starting with their initiation and to the formation of hydroperoxides and malonic dialdehyde [1, 4, 8, 16, 18]. The main mechanism for monitoring these reactions is associated with a chain of reversible oxidation-reduction reactions of metal ions, ascorbate, tocopherol, glutathione and other substances. In addition, these reactions are important for the preservation of long-existing macromolecules of nucleic acids and proteins of the constituent membrane of cells.

Each component of the antioxidant system acts in close relationship with the other structural elements, harmoniously complements, and in many cases – enhances the effect of each other. The functional basis of the antioxidant defence system is formed by the glutathione system, the constituent elements of which are glutathione itself, the enzymes catalyzing the reactions of its reverse transformation (oxidation ↔ reduction). These enzymes include catalase, superoxide dismutase, etc., which are capable to catalyze the reactions of direct destruction of peroxide compounds in humans and animals [1, 4, 8].

Glutathione (L-γ-glutamyl-L-cysteinyl-glycine) is a biologically active tripeptide, which is detected in all organisms. Glutathione performs polyhedral and very important functions in the body: it participates in the neutralization of xenobiotics; protects from active oxygen compounds; increases the resistance of cells to the negative effects of stressors; restores and isomerizes disulfide bonds; performs coenzyme functions; affects the biosynthesis of nucleic acids; has an effect on the proliferation of cells and maintains the functional state of biological membranes. Glutathione reduced is the main sulfur-containing antioxidant in the body [1, 4, 8]. It protects the sulfhydryl groups of globin, erythrocyte membranes, ferrous iron from oxidants. It has been found out that a low concentration of glutathione in cells, in particular in erythrocytes, leads to activation of LPO [1, 4, 8, 16, 18]. Superoxide dismutases (SOD) are metal-containing enzymes that catalyze the

reaction of the dismutation of superoxide radicals into hydrogen peroxide and molecular oxygen. As a rule, enzymes, which have SOD-activity, are inside the cell and are the main enzymes of intracellular antiradical defence of aerobic organisms [1, 4, 8, 16, 18]. It shall be mentioned that both decrease and increase in SOD activity cause the development of pathological processes. Firstly, as a result of insufficient protection from active forms of oxygen, secondly, as a result of increasing the cytotoxic action of hydrogen peroxide, formed as a result of superoxide dismutation. SOD in the blood as a primary antioxidant maintains and controls the level of free radicals and thus creates conditions for the normal use of the oxygen environment of the body. SOD catalyzes the reaction of ROS dismutation into hydrogen peroxide, which can damage SOD, for this reason SOD

always functions together with catalase. Catalase splits quickly enough the hydrogen peroxide, which is harmful to SOD, into water and oxygen. SOD with catalase and other antioxidant enzymes protects the body from highly toxic oxygen radicals.

Catalase is an enzyme of the oxidoreductases class, involved in the detoxification of non-radical active oxygen form –  $H_2O_2$ . The highest concentration of catalase is in the liver. In peroxisomes of hepatocytes, part of the catalase is 40% of all proteins, and its high concentration is in the mitochondria and endoplasmic reticulum [1, 4, 8, 16, 18].

The results of the study of the catalase, SOD, and GSH levels in the blood and kidney homogenate of rats on models of ethylene glycol, glycerol ARF and gentamicin nephropathy are shown in Tables 5-10.

Table 5. The PDT-Na and reference drugs interaction on catalase activity ( $\mu\text{mol}/H_2O_2/\text{min} \times L$ ) in rat blood under AKI conditions ( $M \pm m, n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		31.92±0.18		
Control (ARF)		26.12±0.14*	25.78±0.22*	26.26±0.12*
Experimental (ARF + PDT-Na)		29.72±0.18*/**	29.94±0.16**	28.44±0.16*/**
Reference (ARF + mexidol)		28.84±0.14*/**	29.22±0.22**	28.62±0.16*/**
Reference (ARF + hofitol)		27.28±0.16*/**	26.96±0.26*/**	27.36±0.14*/**
Reference (ARF + thiotriazolin)		29.68±0.16*/**	28.92±0.24**	28.36±0.18*/**

Table 6. The PDT-Na and reference drugs interaction on catalase activity ( $\mu\text{mol}/H_2O_2/\text{min} \times \text{mg}$ ) in rat kidney tissue under AKI conditions ( $M \pm m, n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		12.16±0.98		
Control (ARF)		5.36±0.34*	4.92±0.32*	6.54±0.52*
Experimental (ARF + PDT-Na)		10.56±0.64*/**	11.66±0.56**	10.62±0.44**
Reference (ARF + mexidol)		9.98±0.52*/**	10.44±0.88**	10.44±0.42*/**
Reference (ARF + hofitol)		8.16±0.36*/**	7.86±0.46*/**	8.38±0.46*/**
Reference (ARF + thiotriazolin)		10.66±5.28*/**	11.22±0.62**	10.92±0.54**

note: \* – the indicator deviation is reliable relatively to the intact control,  $p < 0.05$ ;  
\*\* – the indicator deviation is reliable relatively to the control (ARF),  $p < 0.05$

Table 7. The PDT-Na and reference drugs interaction on SOD activity (IU/mL) in rat blood under AKI conditions ( $M \pm m, n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		98.36±5.96		
Control (ARF)		61.58±5.64*	56.64±6.12*	67.32±6.90*
Experimental (ARF + PDT-Na)		82.36±4.98*/**	89.68±5.64**	84.44±6.12*/**
Reference (ARF + mexidol)		79.92±5.06*/**	84.24±4.86*/**	80.96±5.88*/**
Reference (ARF + hofitol)		70.32±4.86*	72.42±4.38*/**	76.34±5.24*/**
Reference (ARF + thiotriazolin)		78.78±5.18*/**	86.56±5.14*/**	81.56±4.56*/**

Table 8. The PDT-Na and reference drugs interaction on SOD activity (IU/mg) in rat kidney homogenate under AKI conditions ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		112.27±6.58		
Control (ARF)		74.42±6.46*	68.16±6.92*	76.68±6.28*
Experimental (ARF + PDT-Na)		95.36±6.38*/**	96.76±6.12*/**	93.38±5.94*/**
Reference (ARF + mexidol)		92.84±6.12*/**	90.34±6.24*/**	91.26±5.86*/**
Reference (ARF + hofitol)		86.64±5.98*	80.46±6.12*/**	84.52±6.16*
Reference (ARF + thiotriazolin)		90.78±5.92*/**	94.52±6.28*/**	90.32±5.86*/**

note: 1. \* – the indicator deviation is reliable relatively to the intact control,  $p < 0.05$ ;  
2. \*\* – the indicator deviation is reliable relatively to the control (ARF),  $p < 0.05$

Table 9. The PDT-Na and reference drugs interaction on GSH level (glutathione reduction) ( $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ) in rat blood under AKI conditions ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		1.98±0.28		
Control (ARF)		1.32±0.26*	1.14±0.32*	1.40±0.22*
Experimental (ARF + PDT-Na)		1.78±0.34**	1.88±0.18**	1.89±0.26**
Reference (ARF + mexidol)		1.76±0.24**	1.84±0.24**	1.88±0.24**
Reference (ARF + hofitol)		1.66±0.32**	1.78±0.26**	1.80±0.24*
Reference (ARF + thiotriazolin)		1.76±0.28**	1.86±0.20**	1.88±0.18**

Table 10. The PDT-Na and reference drugs interaction on GSH level (glutathione reduction) ( $\mu\text{mol}/\text{g}$ ) in rat kidney homogenate under AKI conditions ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Experimental conditions	AKI model	Ethylene Glycol	Glycerol	Gentamicin nephropathy
Intact control		4.38±0.22		
Control (ARF)		2.56±0.22*	2.12±0.16*	2.72±0.16*
Experimental (ARF + PDT-Na)		3.92±0.18**	4.16±0.20**	3.74±0.22**
Reference (ARF + mexidol)		3.88±0.22**	4.08±0.24**	3.70±0.18**
Reference (ARF + hofitol)		3.62±0.20*/**	3.76±0.18*/**	3.64±0.22*/**
Reference (ARF + thiotriazolin)		3.90±0.24**	4.12±0.22**	3.72±0.20*/**

note: \* – the indicator deviation is reliable relatively to the intact control,  $p < 0.05$ ;  
\*\* – the indicator deviation is reliable relatively to the control (ARF),  $p < 0.05$

Analysis of the obtained results of the study shows that in acute kidney injury with nephrotoxins (ethylene glycol, glycerol and gentamicin), there is the depression of enzyme antioxidant defence system, considered as a universal mechanism of oxidative stress (Tables 5-10).

Under the influence of ethylene glycol, the catalase activity in the blood and kidney homogenate reliable in relation to the intact control decreased by 1.22 times (Table 5) and 2.27 times (Table 6), respectively, of SOD – by 1.60 times (Table 7) and by 1.51 times (Table 8), respectively. Ethylene glycol is reliable relatively to the intact decreased the level of renal and endogenous sulfur-containing antioxidant of reduced GSH glutathione in the blood and kidney tissues by 1.50 times (Table 9) and 1.71 times (Table 10), respectively.

The application of PDT-Na and mexidol under conditions of ethylene glycol ARF promoted the normalization

of the state of antioxidant defence in the body of rats, increasing the activity of catalase, SOD and GSH in the blood and in the kidney tissues (Tables 5-10).

The drug PDT-Na is reliable relatively to the control pathology, it increased enzyme activity in the blood and kidney homogenate: catalase – by 1.14 times (Table 5) and by 1.97 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.34 times (Table 7) and by 1.28 times (Table 8), respectively, GSH content – by 1.42 times (Table 9) and by 1.53 times (Table 10), respectively. Comparator, mexidol reliably increased the catalase level in blood and kidney tissues by 1.10 times (Table 5) and 1.86 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.29 times (Table 7) and by 1.25 times (Table 8), respectively, and GSH content – by 1.41 times (Table 9) and by 1.51 times (Table 10) relatively to the animals of the control pathology group.

The comparator, hofitol, in terms of antioxidant effect was inferior to the investigated drug PDT-Na and the reference drug mexidol. Thus, hofitol increased the activity of catalase enzymes by 1.05 times (Table 5) and 1.52 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.14 times (Table 7) and by 1.16 times (Table 8), respectively, and the level of GSH – by 1.24 times (Table 9) and by 1.41 times (Table 10), respectively.

The comparator thiotriazolin, as well as PDT-Na and mexidol, showed a powerful antioxidant effect. It was indicated by the significant increase in the activity of catalase in the blood and in the kidney tissues by 1.15 times (Table 5) and 1.99 times (Table 6), respectively, in SOD – by 1.28 times (Table 7) and by 1.22 times (Table 8), respectively, GSH – by 1.40 times (Table 9) and by 1.52 times (Table 10), respectively.

By the following model of our study, under the conditions of glycerol ARF, it has been found out that glycerol suppressed the state of antioxidant defence. There was a decrease of the catalase activity in the blood and kidney homogenate of the rats of the control group by 1.24 times (Table 5) and 2.42 times (Table 6), respectively, of SOD – by 1.74 times (Table 7) and 1.65 times (Table 8), respectively, of GSH – by 1.74 times (Table 9) and by 2.10 times (Table 10), respectively, relatively to the intact animals.

The investigated drug PDT-Na reduced the antioxidant defence system of animals, increasing significantly the activity of catalase enzymes in the blood and kidney homogenate by 1.16 times (Table 5) and by 2.37 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.58 times (Table 7) and by 1.42 times (Table 8), respectively, GSH content – by 1.65 times (Table 9) and by 1.96 times (Table 10), respectively, in comparison with the control pathology.

The reference drug mexidol showed antioxidant activity similar to PDT-Na, which is manifested by a significant growth in the blood and kidney homogenate of catalase levels by 1.13 times (Table 5) and by 2.12 times (Table 6), respectively, of SOD – by 1.49 times (Table 7) and by 1.33 times (Table 8), respectively, and of GSH content – by 1.61 times (Table 9) and by 1.92 times (Table 10), respectively, in comparison with the animals of the control group.

Hofitol showed weak antioxidant activity in the study. The drug significantly increased the activity of catalase enzymes in the blood and kidney homogenate – by 1.05 times (Table 5) and by 1.59 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.28 times (Table 7) and by 1.18 times (Table 8) respectively, the GSH content – by 1.56 times (Table 9) and by 1.77 times (Table 10), respectively, in comparison with the control of pathology.

The reference drug thiotriazolin showed pronounced antioxidant properties, increasing the activity of catalase enzymes by 1.12 times (Table 5) and 2.28 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.53 times (Table 7) and 1.39 times (Table 8), respectively, and GSH content – by 1.63 times (Table 9) and 1.94 times (Table 10), respectively.

It has been demonstrated on the model of gentamicin nephropathy (Tables 5-10) that aminoglycoside antibiotic gentamicin significantly reduced the activity of enzymes of antioxidant catalase defence by 1.21 times (Table 5)

and by 1.86 times (Table 6) relatively to the control pathology group, SOD – by 1.46 times (Table 7) and 1.46 times (Table 8), respectively, GSH – by 1.41 times (Table 9) and 1.61 times (Table 10), respectively.

Within the conditions of the gentamicin nephropathy the investigated drug PDT-Na promoted reduction of the system of antioxidant defence of the animals. This was proved by a significant increase of catalase enzymes activity in the blood and kidney homogenate by 1.10 times (Table 5) and by 1.62 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.25 times (Table 7) and by 1.22 times (Table 8), respectively, GSH – by 1.35 times (Table 9) and by 1.38 times (Table 10), respectively.

Mexidol, like PDT-Na, showed significant antioxidant activity, increasing significantly the level of catalase in the blood and kidney homogenate by 1.10 times (Table 5) and by 1.59 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.20 times (Table 7) and by 1.19 times (Table 8), respectively, GSH – by 1.35 times (Table 9) and by 1.36 times (Table 10), respectively.

Hofitol in terms of antioxidant activity is inferior to drugs PDT-Na and mexidol. It increases the activity of enzymes of antioxidant defence in the blood and kidney homogenate: of catalase – by 1.05 times (Table 5) and by 1.28 times (Table 6), respectively; SOD – by 1.13 times (Table 7) and by 1.10 times (Table 8), respectively; GSH – by 1.29 times (Table 9) and by 1.34 times (Table 10), respectively.

The comparator, thiotriazolin, with proven antioxidant activity, due to its pharmacodynamics, contributed to a significant increase of the enzymes activity of: catalase – by 1.10 times (Table 5) and by 1.67 times (Table 6), respectively, SOD – by 1.21 times (Table 7) and by 1.18 times (Table 8), respectively, GSH – by 1.35 times (Table 9) and by 1.37 times (Table 10), respectively, in comparison with the pathology control group.

**Conclusion.** Thus, experimentally, according to the models of acute kidney injury, it has been shown the inhibit of the mechanisms of antioxidant defence and the important role of oxidative stress in the development of acute kidney pathology.

The investigated drug PDT-Na, which is better than the plant nephroprotective hofitol and at the level of antioxidant with cytoprotective action of thiotriazoline, reduces the primary and final products of LPO-DC and TBA-AP.

The application of the drug PDT-Na leads to the activation of the enzymes of catalase antioxidant defence, SOD, accumulation of the endogenous antioxidant GSH to the almost intact level. The abovementioned information indicates that the antihypoxicant PDT-Na with previously established nephroprotective activity shows antihypoxic, antioxidant, antiradical and cytoprotective properties and it is a promising drug for complex treatment of kidney diseases.

## REFERENCES

1. Антоняк Г.Л., Бабич Н.О., Сологуб Л.И., Снітинський В.В. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин. Біологія тварин. 2000; 2: 34-42.



2. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. реком. СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000; 104.
3. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. К.: Наукова думка, 1997; 420.
4. Губерук В.О. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантна система захисту організму. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. 2008; 3-1 (38): 51–55.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За ред. О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001; 528.
6. Ермоленко Т.И., Гордійчук Д.А., Карнаух Е.В., Онашко Ю.Н., Киричек Л.Т. Механизм нефропротекторного действия натриевой соли поли-2,5-дигидроксибензена-4-тиосульфокислоты. Экспериментальная и клиническая медицина. 2016; 1 (70): 12–14.
7. Ермоленко Т.И., Киричек Л.Т., Карнаух Э.В., Гордійчук Д.А., Онашко, Ю.Н. Патогенетическое обоснование фармакотерапии в нефрологии. Международный медицинский журнал. 2016; 22; 2 (86): 53–56.
8. Єлісєєва О.П., Тимочко М.Ф., Абрагамович О.О. та ін. Стратегія і тактика антиоксидантного захисту в клініці внутрішніх хвороб. Укр. мед. часопис. 2003; 3: 92–99.
9. Ермоленко Т.И., Александрова А.В., Гордійчук Д.О., Онашко Ю.М. Фармакологічне дослідження активності основних ферментів сироватки крові щурів з гострим пошкодженням нирок при застосуванні натрієвої солі полі-(2,5-дигідроксибензена)-4-тіосульфокислоти. Експериментальна і клінічна медицина. 2017; 1 (74): 10–16.
10. Ермоленко Т.И., Зуланець І.А., Отрішко І.А. Дослідження азотвільної функції нирок статевозрілих щурів на фоні застосування нового уролітичного засобу на основі сукцинатів за умов експериментального моделювання ниркової недостатності. Запорожский медицинский журнал. 2013; 2 (77): 18–20.
11. Ермоленко Т.И., Зуланець І.А., Шебеко С.К. Вивчення впливу нового уролітичного засобу на основі сукцинатів на азотвільну функцію нирок при нирковій недостатності у щурів. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2013; № 1 (11). С. 21–24.
12. Ермоленко Т.И., Карнаух Е.В., Гордійчук Д.О., Онашко Ю.М. Вплив натрієвої солі полі-(2,5-дигідроксибензена)-4-тіосульфокислоти на електролітний обмін при експериментальному гострому пошкодженні нирок. Медицина сьогодні і завтра. 2017; 1 (74): 4–11.
13. Ермоленко Т.И., Киричек Л.Т., Александрова А.В., Карнаух Е.В., Гордійчук Д.О., Онашко Ю. М. Нефропротекторні властивості натрієвої солі полі-(2,5-дигідроксибензена)-4-тіосульфокислоти при експериментальному гострому токсичному пошкодженні нирок. Врачебное дело. 2016; 3-4: 130–134.
14. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захарина Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Вища школа, 1983; 381.
15. Козловский В.И., Коневалова Н.Ю., Козловская С.П. Новый цитопротектор тиотриазолин. Вестник фармации. 2007; 4 (38): 55–59.
16. Король Л. В. Показники оксидативного стресу при запальних захворюваннях нирок. Світ медицини та біології. 2015; Т. 11, 2-1: 41–45.
17. Мешишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Метод кількісного визначення NS-груп у крові. Буковинський медичний вісник. 2002; 6; 2: 190–192.
18. Мороз О.Л. Роль оксидантного стресу в осіб з уролітазом єдиної нирки за даними системи глутатіону. Здоров'є мужчини. 2015; 2: 134–137.
19. Рикало Н.А., Андрощук О.В. Біохімічні показники крові у статевозрілих щурів при медикаментозному ураженні нирок протитуберкульозними препаратами. Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 50-річчю кафедри патологічної анатомії та кафедри патофізіології Запорізького державного медичного університету, Запоріжжя, 28-29 травня 2015. Запоріжжя, 2015; 67–68.
20. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология. С.Пб.: Лань, 1997; 304.
21. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тио-барбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии / ред. В.Н. Орехович. М.: Медицина, 1977; 66–68.
22. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Определение диеновых конъюгатов. Современные методы в биохимии / ред. В.Н. Орехович. М.: Медицина, 1977; 43–44.
23. Тугушева Ф.А., Зубина И. М. Оксидативный стресс и его участие в неиммунных механизмах прогрессирования хронической болезни почек. Нефрология. 2009;13; 3: 42–48.
24. Тугушева Ф.А., Зубина И. М., Митрофанова О. В. Оксидативный стресс и хроническая болезнь почек. Нефрология. 2007; 11; 3: 29–47.
25. Щудрова Т.С., Загорський І.І. Механізми реалізації захисного впливу деяких олігопептидів при ішемії-реперфузії нирок. Одеський медичний журнал. 2015; 3: 7–10.
26. Basile, D.P., Anderson, M.D., & Sutton, T.A. (2012). Pathophysiology of Acute Kidney Injury. Comprehensive Physiology, 2(2), 1303-1353.
27. Bell, S., Dekker, F.W., Vadiveloo, T., Marwick, C., Deshmukh, H., Donnan, P.T., & Van Diepen, M. (2015). Risk of postoperative acute kidney injury in patients undergoing orthopaedic surgery—development and validation of a risk score and effect of acute kidney injury on survival: observational cohort study. The BMJ, 351, h5639.
28. Cerdá, J., Mohan, S., Garcia-Garcia, G., Jha, V., Samavedam, S., Gowrishankar, S. Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Consensus Group. (2017). Acute Kidney Injury Recognition in Low- and Middle-Income Countries. Kidney International Reports, 2(4), 530-543.
29. Dennis JM, Witting PK. Protective Role for Antioxidants in Acute Kidney Disease. Nutrients. 2017;9(7):718.
30. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg. 1986;123: 51.
31. Iermolenko T., Karnaukh E., Gordiychuk D., Onashko Yu., Aleksandrova A. Nephroprotective Activity of Sodium Poly-(2,5-Dihydroxyphenilene)-4-Thiosulfate acid Under Acute Renal Injury [Electronic resource]. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2017; 43(2): 20–26.
32. Iermolenko T., Kirichek L., Karnaukh E., Gordiychuk D., Onashko Yu. Experimental study of nephroprotective properties of sodium poly-(2,5-dihydroxyphenilene)-4-thiosulfate acid [Electronic resource] International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2016; 37(1): 80–184.
33. Iermolenko T.I. The influence of the drug “Flarosuktyn” on reabsorption filtration and renal function in the development of experimental renal failure. Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine. 2012; 7 (4): 90–93
34. Luo, X., Jiang, L., Du, B., Wen, Y., Wang, M., & Xi, X. (2014). A comparison of different diagnostic criteria of acute kidney injury in critically ill patients. Critical Care, 18(4), R144.
35. Malhotra, R., & Siew, E. D. (2017). Biomarkers for the Early Detection and Prognosis of Acute Kidney Injury. Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN, 12(1), 149–173.
36. Shtryhol S.Yu., Lesovoy V.N., Zupanets I.A. et al. Methods of experimental kidney damage modeling for pharmacological studies. Kharkov, Pharmacy, 2009; 48.

## SUMMARY

### DYNAMICS OF INDICATORS OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN RESPONSE TO THE APPLICATION OF SODIUM POLY-(2,5-DIHYDROXYPHENYLEN)-4-THIOSULFATE ACID IN EXPERIMENTAL ACUTE KIDNEY INJURY

Iermolenko T., Krivoshepa A., Shapoval O.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

The purpose of the study is to establish the effect of the investigated drug PDT-Na on the parameters of free radical lipid oxidation and the system of antioxidant defence of the kidneys in rats on models of acute renal failure and gentamicin nephropathy.

The studies were conducted on 96 white mature, full-grown non-linear rats of both sexes weighing 150-170 grams. The animals were divided into 16 groups (5 groups per model and one intact group): the animals of the experimental, reference and control pathology groups (1) received the corresponding nephrotoxin. In each model the groups of rats received the following treatment: experimental (2) – PDT-Na, reference – mexidol (3), hofitol – (4) and thiotriazolin (5). The results of the study show that under the conditions of acute kidney injury the PDT-Na assists to reduce the primary intermediates – diene conjugates and secondary intermediates of lipid peroxidation - TBA-reactive products, activation of enzymes of catalase antioxidant defence and superoxide dismutase and accumulation to the almost intact level of GSH endogenous antioxidant. The abovementioned information indicates that the drug of the pharmacological group – antihypoxicant PDT-Na with previously established nephroprotective activity has shown antioxidant, antiradical and cytoprotective properties during the experiment. This is a promising drug for complex treatment of kidney diseases.

**Keywords:** sodium poly-(2,5-dihydroxyphenyl)-4-thiosulfate acid, antihypoxant drug, kidneys, nephroprotection, oxidative stress, antioxidant action, antiradical action.

## РЕЗЮМЕ

### ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ОТВЕТ НА ПРИМЕНЕНИЕ НАТРИЕВОЙ СОЛИ ПОЛИ-(2,5-ДИГИДРОКСИФЕНИЛЕН)-4-ТИОСУЛЬФОКИСЛОТЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК

Ермоленко Т.И., Кривошапка А.В., Шаповал О.Н.

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Цель исследования - установить влияние препарата поли-(2,5-дигидроксифенилен)-4-тиосульфокислоты

натриевой соли на показатели свободнорадикального окисления липидов и системы антиоксидантной защиты почек у крыс на моделях острой почечной недостаточности и гентамициновой нефропатии.

Исследования выполнены на 96 белых половозрелых беспородных нелинейных крысах обоего пола массой тела 150-170 г. Животные разделены на 16 групп (по 5 групп на каждую модель и одна интактная группа): животные опытных, референтных и групп контрольной патологии (1) получали соответствующий нефротоксин. В каждой модели в качестве лечения крыс получали: опытные (2) – поли-(2,5-дигидроксифенилен)-4-тиосульфокислоту натриевой соли (ПДТ-Na), референтные – мексидол (3), хофитол – (4) и тиотриазолин (5). Результаты исследований установлено, что в условиях острого повреждения почек препарат ПДТ-Na способствует снижению первичных интермедиатов – диеновых конъюгатов и вторичных интермедиатов перекисного окисления липидов – ТБК-реактивных продуктов, активации работы ферментов антиоксидантной защиты каталазы и супероксиддисмутазы и накоплению почти до интактного уровня эндогенного антиоксиданта GSH.

Вышеизложенное свидетельствует, что препарат антигипоксикант ПДТ-Na, с установленной ранее нефропротекторной активностью, проявил антиоксидантные, антирадикальные и цитопротекторные свойства в эксперименте, что является перспективным в комплексном лечении заболеваний почек.

## რეზიუმე

ანტიოქსიდაციური დაცვის მაჩვენებლების დინამიკა პოლი-(2,5-დიჰიდროქსიფენილენ)-4-თიოსულფოქსიმუჟავას ნატრიუმის მარილის ზემოქმედებაზე თირკმლების ექსპერიმენტული მწვავე დაზიანების დროს

ტ. ერმოლენკო, ა. კრივოშაპკა, ო. შაპოვალი

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პოლი-(2,5-დიჰიდროქსიფენილენ)-4-თიოსულფოქსიმუჟავას ნატრიუმის მარილის (პდტ-Na) გავლენის შეფასება ლიპიდების თავისუფალრადიკალური ჟანგვის და ანტიოქსიდაციური დაცვის სისტემის მაჩვენებლებზე თირკმლების მწვავე უკმარისობის და გენტამიცინური ნეფროპათიის მოდელებზე ვირთავებში.

კვლევა ჩატარებულია 96 თეთრ ზრდასრულ, ორივე სქესის, 150-170 გრ მასის, არახაზოვან ვირთავებაზე. ცხოველები დაიყო 16 ჯგუფად: 5 ჯგუფი თითოეულ მოდელებზე და ერთი ინტაქტური ჯგუფი: საცდელი, რეფერენტული და საკონტროლო. (1) პათოლოგიის ჯგუფის ცხოველები იღებდნენ შესაბამის ნეფროტოქსინს: საცდელი

(2) - პდო- $\text{Na}$ -ს, რეფერენტული – მექსიდოლს (3), ქოფიტოლს (4) და თიოტრიაზოლინს (5).

კვლევის შედეგებით დადგენილია, რომ თირკმლების მწვავე დაზიანების პირობებში პრეპარატი პდო- $\text{Na}$  ხელს უწყობს პირველად ინტერმედიატების – დიენური კონიუგატების და ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის მეორადი ინტერმედიატების შემცირებას, კატალაზას და სუპეროქსიდდისმუტაზას ანტიოქსიდაციური დაცვის ფერმენტების აქტივაციას და ენდოგენური ანტი-

ოქსიდანტების დაგროვებას თითქმის ინტაქტურ დონემდე.

ზემოაღნიშნული მიუთითებს, რომ ანტიპროქსანტა ფარმაკოლოგიური ჯგუფის პრეპარატი პდო- $\text{Na}$ , ადრე დადგენილ ნეფროპროტექტორულ აქტივობასთან ერთად, ექსპერიმენტში ავლენს ანტიოქსიდაციურ, ანტირადიკალურ და ციტოპროტექტორულ თვისებებს, რაც პერსპექტიულია თირკმლის დაავადებათა კომპლექსური მკურნალობისათვის.

## ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ПАЗАРИТИЧЕСКИХ ПРОСРЕЙШИХ И ВОЗМОЖНОСТИ РАЗРАБОТКИ АНТИПРОТОЗОЙНЫХ ПРЕПАРАТОВ (ОБЗОР)

<sup>1</sup>Ларина С.Н., <sup>1</sup>Сахарова Т.В., <sup>1</sup>Чебышев Н.В., <sup>1</sup>Беречикидзе И.А., <sup>2</sup>Деркачева Н.И.

<sup>1</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»; <sup>2</sup>Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Россия

Протозойные болезни относятся к наиболее распространенным в мире среди инфекционных заболеваний [1,2]. Однако разработка противопрозоидных препаратов осложняется недостаточной изученностью биохимии и физиологии паразитов [3,4].

Целью исследования является анализ современных данных, полученных при изучении биохимии и метаболизма паразитических простейших, в том числе амитохондриальных.

Результаты данного исследования весьма значимы для разработки химиотерапии протозоозов, тем более, что многие вопросы остаются не до конца изученными. Многие паразиты адаптированы к различным хозяевам, как дефинитивным, так и к переносчикам. Эти хозяева часто очень отдаленные в эволюционном отношении животные – различные виды млекопитающих, в том числе, человек и насекомые. Соответственно, в хозяевах с настолько различающейся биохимией и физиологией, метаболизм паразита также должен значительно различаться, причем должен существовать механизм быстрого переключения метаболизма сразу после трансмиссии паразита. В связи с этим у паразитических простейших часто существует несколько типов метаболизма, реализующихся последовательно в жизненном цикле.

Знание биохимии паразитов важно для создания противопаразитарных препаратов, что позволит выбирать такие метаболические узлы, цепочки или ферменты, которые отсутствуют в клетках и тканях человека. Такие препараты будут токсичны для паразитов, и, в то же время, иметь минимальный побочный эффект для человека. Метаболизм паразитов значительно отличается от такового большинства эукариотических организмов. У целого ряда внеклеточных паразитических простейших человека, например *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas* sp,

обитающих в среде с пониженным содержанием кислорода, отсутствуют митохондрии [6]. Такие организмы принято называть амитохондриатами, хотя данный термин представляется не совсем корректным в связи с тем, что в клетках этих простейших присутствуют особые органеллы – гидрогеносомы, по всей вероятности имеющие общее происхождение с митохондриями [5]. Подобно митохондриям, гидрогеносомы обеспечивают клетки энергией, однако функционируют в отсутствие кислорода. Энергетический метаболизм чрезвычайно важен для паразитов, так как при переходе от хозяина к хозяину и столкновении с иммунной системой, паразит оказывается в экстремальных условиях, граничащих с возможностью выживания. Гидрогеносомы имеют диаметр 0.5-2.0 мкм, окружены двойной мембраной, при этом выросты внутренней мембраны менее выраженные, чем кристы митохондрий. В гидрогеносомах ряда простейших обнаружен собственный геном [15]. Считается, что гидрогеносомы могут иметь симбиотическое происхождение и происходят от организмов, подобных кластридиям.

Лучше всего изучены гидрогеносомы трихомонад. В этих органеллах происходит окисление пирувата, сопровождающееся синтезом аденозинтрифосфата (АТФ) и выделением молекулярного водорода, ацетата, углекислого газа. Предполагаемая схема процесса представлена на рис. 1. Окислительное декарбоксилирование пирувата с образованием ацетил-КоА происходит под действием фермента пируват:ферредоксин-оксидоредуктазы (Fe-гидрогеназы) и сопряжено с восстановлением ферредоксина. Последующее окисление ферредоксина обеспечивает перенос электронов на протоны с образованием молекулярного водорода. Под действием ацетат-сукцинат-КоА-трансферазы ацетил-КоА взаимодействует с сукцинатом, в результате образу-



ются ацетат и сукцинил-КоА. Сукцинил-КоА вступает в реакцию субстратного фосфорилирования, катализируемую сукцинаттхиокиназой, что приводит к образованию молекулы АТФ и сукцината.

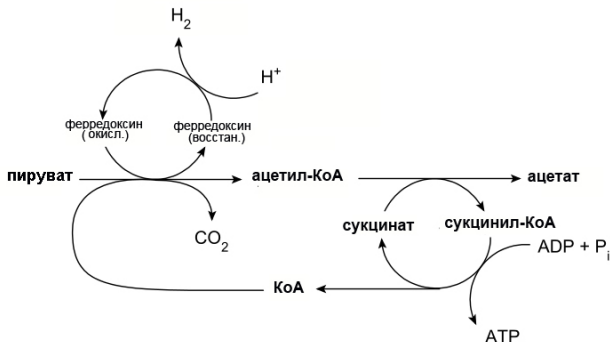


Рис. Механизм образования АТФ в гидрогеносомах

В анаэробных условиях невозможно полноценное функционирование электронотранспортной цепи митохондрий в связи с отсутствием конечного акцептора электронов кислорода, поэтому основным способом получения энергии в гидрогеносомах является субстратное фосфорилирование. Однако во внутренней мембране гидрогеносом *Trichomonas vaginalis* обнаружены ферменты, входящие в состав первого комплекса дыхательной цепи митохондрий, которые способны восстанавливать ферредоксин [8].

Энергетический выход процесса, происходящего в гидрогеносомах, значительно ниже, чем при окислительном фосфорилировании в дыхательной цепи митохондрий. У амитохондриат в ходе ферментативного метаболизма образуется только несколько молекул АТФ на одну молекулу расщепленной гексозы.

Источником пирувата для окисления в гидрогеносомах является гликолиз, основной процесс использования углеводов у амитохондриальных паразитов. Образующийся в ходе гликолитического этапа пируват может вступать не только в окислительное декарбоксилирование, описанное выше, но также и в процесс спиртового брожения.

Основным источником энергии для амитохондриат являются углеводы, преимущественно глюкоза, ее олигомеры и полимеры. Аминокислоты и липиды, как правило, не используются для получения энергии. Исключением является аргинин, который метаболизируется при участии аргинингидролазы до цитруллина и аммиака. Данный путь катаболизма аргинина характерен для прокариот и представляет собой обращенные реакции орнитинового цикла эукариот [15]. Образовавшийся из аргинина цитруллин превращается в орнитин и карбамоилфосфат. Далее под действием карбаматкиназы осуществляется перенос фосфатной группы с карбамоилфосфата на аденозиндифосфат (АДФ) с образованием АТФ и выделением углекислого газа и аммиака. В результате на одну молекулу аргинина образуется одна молекула АТФ.

Конечные продукты метаболизма амитохондриат - этанол, ацетат, молекулярный водород, углекислый газ, аммиак выделяются в окружающую среду - организм хозяина. Полученный в катаболических процессах АТФ используется для энергетических нужд паразитов [10]. Еще одно сходство энергетического обмена амитохондриат с прокариотами - это разветвленность метаболических путей. Данная особенность является элементом адаптации к возможным изменениям условий окружающей среды и позволяет осуществлять регуляцию метаболизма.

Органические субстраты в клетках амитохондриат не окисляются полностью, основным способом получения АТФ является субстратное фосфорилирование. В данном случае при окислении молекулы глюкозы максимальное количество молекул АТФ не может быть более 4-5. Такой энергетический обмен недостаточен для обеспечения энергией свободноживущего организма. Эндопаразиты обитают в среде, богатой легкоусвояемыми органическими соединениями, поэтому их существование возможно и при невысоком энергетическом выходе катаболических процессов [9]. В ходе эволюции паразитические простейшие, очевидно, утратили способность осуществлять окислительное фосфорилирование, протекающее в митохондриях, и позволяющее получать большое количество энергии за счет использования кислорода в качестве конечного акцептора электронов в дыхательной цепи. Метаболизм лямблий и трихомонад - пример адаптации организма к условиям обитания путём морфофизиологического регресса, часто встречающегося явления среди паразитов [7]. Считается, что гидрогеносомы необходимы анаэробным трихомонадам для того, чтобы их чувствительные ферментные системы, заключенные в гидрогеносомах, не разрушались от контакта с кислородом.

Биохимические особенности метаболизма паразитических простейших могут послужить мишенью для разработки антипротозойных лекарственных препаратов, специфически влияющих на организм паразита и безвредных для организма хозяина. Примером такого лекарственного средства, достаточно давно применяемого для лечения анаэробных инвазий, вызванных *Trichomonas*, *Giardia*, *Entamoeba*, является метронидазол [14]. Механизм действия данного препарата стал понятен в ходе изучения энергетического обмена, протекающего в гидрогеносомах амитохондриат. Препарат попадает внутрь возбудителя посредством диффузии, где неферментативно восстанавливается ферредоксином, производимым ферментом пируват:ferredоксин-оксидоредуктазой, при этом образуется токсичный для клеток продукт. Восстановленная нитрогруппа метронидазола взаимодействует с ДНК клетки микроорганизмов, ингибируя процессы репликации и транскрипции, что приводит к гибели паразитов. Так как ферментативный комплекс пируват:ferredоксин-оксидоредуктаза, присутствует только в клетках паразита, осуществляющего анаэробный обмен, токсическая восстановленная форма метронидазола избирательно накапливается именно в их клетках.



Детально изучена биохимия возбудителей африканского трипаномоза (*Trypanosoma brucei gambiense* и *Trypanosoma brucei rhodesiense*), вызывающего сонную болезнь у жителей Восточной и Западной Африки. Особенность метаболизма углеводов у этих простейших состоит в том, что ряд ферментов гликолиза локализован внутри пероксисомоподобных органелл – гликосом. В связи с этим гликосомы интересны не только для фундаментальных исследований, но и в качестве мишеней для химиотерапии [13].

Для форм трипаносом, находящихся в кровяном русле, основным источником углерода и энергии служит глюкоза, кроме того, они могут использовать фруктозу, маннозу и глицерол. Стадии трипаносом, находящиеся в крови и тканевых жидкостях, имеют доступ к неограниченному источнику глюкозы, который поддерживается в относительно постоянной концентрации более 5,5 ммоль/л.

У большинства эукариот гликолиз происходит в цитоплазме клеток. У паразитических протистов имеются специализированные органеллы – гликосомы, содержащие необходимые ферменты, что позволяет им осуществлять так называемый аэробный гликолиз. Аэробным гликолизом называют процесс окисления глюкозы до пировиноградной кислоты, протекающий в присутствии кислорода. При аэробном гликолизе глюкоза окисляется до пирувата, а не лактата, как при анаэробном гликолизе. В дальнейшем пируват направляется в цикл Кребса, локализованный в митохондриях. Гликосомы – одномембранные органеллы, в которых находятся ферменты аэробного гликолиза в очень высоких концентрациях. В клетках трипаносом первые семь ферментов гликолиза локализованы внутри гликосомы. В этих органеллах также присутствуют два фермента метаболизма глицерина и несколько ферментов пентозофосфатного пути. Гликосомы напоминают пероксисомы, обнаруживаемые в клетках других организмов, но в них отсутствуют типичные ферменты пероксисом, такие как, пероксидаза и каталаза. Около 90% белков гликосомы являются ферментами гликолиза.

Поскольку в трипаносомах, имеющих одну митохондрию, нет ни классической дыхательной цепи, ни функционального цикла трикарбоновых кислот, конечным продуктом метаболизма является пируват, который выделяется непосредственно в кровоток хозяина, а не метаболизируется в молочную кислоту или воду и углекислый газ. Таким образом, небольшое количество АТФ образуется при реакции субстратного фосфорилирования в гликосомах [13].

Высокий уровень поглощения глюкозы паразитами объясняется образованием небольшого количества АТФ. Формы, присутствующие в кровяном русле не содержат ни запасных углеводов, таких как гликоген или другие полисахариды, ни других энергетических резервов, как креатинфосфат, полифосфаты. Мишенью для химиотерапии могут служить процессы, связанные с ингибированием гликолитического пути или уменьшением уров-

ня энергетического субстрата, такого как глюкоза. Это приводит к быстрому снижению уровня АТФ в клетке паразита, общей потере подвижности и исчезновению трипаносом из кровотока инвазированного хозяина.

В гликосомах трипаносом, также как и при гликолизе, происходящем в цитоплазме у других организмов, в реакции окисления глицеральдегид-3-фосфата, катализируемой глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой, образуется никотинамидадениндинуклеотид (НАДН). Регенерация НАД<sup>+</sup> сопряжена с образованием НАДН или флавинадениндинуклеотид (ФАДН<sub>2</sub>) в митохондриях. Между гликосомами трипаносом и их митохондрией существует тесная взаимосвязь, позволяющая переносить восстановительные эквиваленты. Перенос восстановительных эквивалентов происходит с участием НАД-зависимых или ФАД-зависимых глицерол-3-фосфат-дегидрогеназ, что сопровождается образованием в гликосоме и последующим окислением в митохондриях глицерол-3-фосфата, подобно тому, как это происходит в глицеролфосфатном челночном механизме клеток хозяина. В митохондриях трипаносом функционирует только первый комплекс дыхательной цепи, НАДН-убихинон-оксидоредуктаза. На нем митохондриальный НАДН отдает электроны на убихинон, а образовавшийся убихинол окисляется с участием трипаносомной альтернативной оксидазы (ТАО). Под действием ТАО электроны с убихинола непосредственно переносятся на молекулярный кислород с образованием эндогенной воды, при этом не происходит формирования протонного потенциала и выделяемая энергия рассеивается в виде тепла. Таким образом, в результате метаболизма глюкозы (гликолиз в гликосоме, глицерол-3-фосфатный челнок) у трипаносом образуются пируват и глицерол-3-фосфат и осуществляется синтез одной молекулы АТФ в реакции субстратного фосфорилирования.

У форм трипаносом, присутствующих в крови, отсутствует цитохромоксидаза и описанный механизм представляет собой единственный способ регенерации НАД<sup>+</sup> гликосом, поэтому его функционирование является обязательным условием выживания паразита [17]. Альтернативные оксидазы найдены и у других простейших-патогенов, например, у возбудителя тропической малярии *Plasmodium falciparum* [18]. В тоже время у видов рода *Leishmania* этот класс ферментов не обнаружен.

Фермент ТАО, как и альтернативные оксидазы других организмов, не чувствителен к цианиду, азиду, СО, антимицину А и миксотиазолу, но ингибируется ароматическими гидроксамовыми кислотами, в частности салицилгидроксамовой кислотой. Действие салицилгидроксамовой кислоты подавляет активность ТАО и имитирует эффект отсутствия кислорода, что подавляет у трипаносом метаболизм углеводов. ТАО представлялся удачной мишенью для разработки химиотерапии при трипаномозах, однако показано [17], что ингибирование этого фермента на протяжении длительного времени не приводит к гибели три-

паносом. В условиях снижения синтеза АТФ до 50% кровяные формы остаются подвижными.

В отсутствии кислорода или при ингибировании ТАО накапливается глицерол-3-фосфат, который образуется в ходе регенерации НАД<sup>+</sup>. Этот процесс со временем может приводить к образованию глицерола, который токсичен для трипаносом. Паразиты выживают до тех пор, пока глицерол не накопится в среде.

Способность трипаносом длительное время выживать за счет регенерации НАД<sup>+</sup> при восстановлении промежуточных метаболитов гликолиза объясняется, почему многие новые и эффективные ингибиторы альтернативной оксидазы трипаносом (наиболее сильный аскофуранон) не разработаны в качестве антитрипаносомных препаратов.

Поскольку у трипаносом отсутствуют запасные источники энергии (не накапливается гликоген и не образуется креатинфосфат) в условиях отсутствия глюкозы уровень АТФ в клетке быстро падает до нуля, приводя к полному обездвиживанию трипаносом. В этих условиях кровь хозяина быстро очищается от паразитов. В этой связи можно предположить, что подходящими мишенями для лекарственных препаратов могут стать белки-транспортеры глюкозы, расположенные в мембране паразита. Предполагается, что эффективными при лечении трипаносомоза являются препараты, необратимо ингибирующие ферменты гликолиза у паразита.

В будущем исследования в области биохимии паразитических простейших могут привести к разработке эффективной химиотерапии протозоозов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гузеева Т.М., Сергиев В.П. Состояние диагностики паразитарных заболеваний в РФ. // Мед. паразитология. - 2011. - № 4. - 38-41.
2. Твердохлебова Т.И., Яговкин Э.А. Состояние и перспективы развития технологического направления в области диагностики и терапии паразитарных болезней. // Мед. паразитология.-2014.- № 1.- с.3-5.
3. Llubra Montesino, Brun R, Schmidt T. Search for Antiprotozoal Activity in Herbal Medicinal Preparations; New Natural Leads against Neglected Tropical Diseases. *Molecules*. 2015 Aug 4; 20(8):14118-38.
4. Patrícia de Brum Vieira, Raquel Brandt Giordani, Alexandre José Macedo Tiana Tasca. Received Natural and synthetic compound anti-Trichomonas vaginalis: an update review. *Parasitol Res*. 2015; DOI 10.1007/s00436-015-4340-3
5. Карпов С.А. Строение клетки протистов. Учебное пособие для студентов биологических специальностей ВУЗов. ТЕССА Санкт Петербург: 2001.
6. Adam R.D. Biology of Giardia lamblia. *Clin. Microbiol*. 2001; 14: 447-475.
7. Hackstein J.H.P., Akhmanova A., Boxma B., Harhangi H.R., Voncken F.G.J. Hydrogenosomes: eukaryotic adaptations to anaerobic environments. *Trends Microbiol*. - 1999. - 7 - 441-447.
8. Hardy I., Hirt R. P., Dolezal P. Trichomonas hydrogenosomes contain the NADH dehydrogenase module of mitochondrial complex I // *Nature*. - 2004. - 432. - P. 618 - 622.
9. Lindmark D.G., Eckenrode B.L., Halberg L.A., Dinbergs I.D. Carbohydrate, energy and hydrogenosomal metabolism of Trichomonas foetus and Trichomonas vaginalis. *J. Protozool*. -1989.- 36 - 214-216.
10. Müller M. Energy metabolism of protozoa without mitochondria. *Annu. Rev. Microbiol*. - 1988 - 42. - 465-488.
11. Müller M. The hydrogenosome. *J. Gen. Microbiol*. - 1993 - 139 - 2879-2889.
12. Samuelson, J. Why metronidazole is active against bacteria and parasites. *Antimicrob. Agents Chemother*. - 1999 -43 - 1533-1541.
13. Set B. Roberts, Jennifer L. Robichaux Proteomic and network analysis in Trypanosoma cruzi. *BMC Systems Biology* – 2009 - 3 - 52-67.
14. Upcroft P, Upcroft J.A. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clin. Microbiol*. - 2001 - 114 - 150-164.
15. van der Giezen M, Tovar J, Clark CG. Mitochondrion-derived organelles in protists and fungi. *Int. Rev. Cytol*. 244: 175–225.
16. Cusumano Z.T., Watson M.E.Jr., Streptococcus pyogenes arginine and citrulline catabolism promotes infection and modulates innate immunity. *Infect. Immun*. - 2014 - 82(1) - 233-242.
17. Рогов А.Г., Суханова Е.И., Уральска Л.А., Аливердиева Д.А., Звягильская Р.А. Альтернативная оксидаза: распространение, индукция, свойства. *Успехи биологической химии* - 2014 - 54 - 413–45.
18. Murphy A.D., Lang-Unnasch N. Alternative oxidase inhibitors potentiate the activity of atovaquone against Plasmodium falciparum, *Antimicrobial agents and chemotherapy* 1999 - 43 - 651–654.

## SUMMARY

### CHARACTERISTICS OF PARASITIC PROTOZOA METABOLISM AND POSSIBILITIES OF ANTI-PROTOZOA DRUG DEVELOPMENT (REVIEW)

<sup>1</sup>Larina S., <sup>1</sup>Sakharova T., <sup>1</sup>Chebyshev N.,  
<sup>1</sup>Berechikidze I., <sup>2</sup>Derkacheva N.

<sup>1</sup>Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; <sup>2</sup>Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Russia

One of the most poorly studied areas of protozoology is metabolic processes of parasitic protozoa. Study of the biochemistry of parasites required for the development of effective chemotherapy of protozoal diseases. Some amitochondrial parasites of humans, such as Giardia intestinalis, Entamoeba histolytica, Trichomonas sp., living in an environment with low oxygen content, have specialized cellular organelles-hydrogenosomes (like mitochondria provide cells with simple energy). The study of the functioning of these organelles allows us to consider them as targets for the development of antiprotozoal drugs. The target for chemotherapy in the treatment of trypanosomiasis can be processes related to the characteristics of the glycolytic pathway or a decrease in the level of energy substrate, such as glucose. This leads to a rapid decrease in ATP levels in the cell of the parasite, an overall loss of mobility and disappearance of trypanosomes from the bloodstream of the infected host. Also, glucose transporters located in the membrane of the parasite can be targets for drugs.

**Keywords:** parasitic protozoa, metabolism, hydrogenosomes, antiprotozoal drugs.

## РЕЗЮМЕ

### ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ПАРАЗИТИЧЕСКИХ ПРОСТЕЙШИХ И ВОЗМОЖНОСТИ РАЗРАБОТКИ АНТИПРОТОЗОЙНЫХ ПРЕПАРАТОВ (ОБЗОР)

<sup>1</sup>Ларина С.Н., <sup>1</sup>Сахарова Т.В., <sup>1</sup>Чебышев Н.В.,  
<sup>1</sup>Беречкидзе И.А., <sup>2</sup>Деркачева Н.И.

<sup>1</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»; <sup>2</sup>Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Россия

Малоизученным разделом протозоологии являются метаболические процессы паразитических простейших. Исследования биохимии паразитов необходимы для разработки эффективной химиотерапии протозоозов. Некоторые амитохондриальные паразиты человека, такие как *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas sp.*, обитающие в среде с пониженным содержанием кислорода, имеют специализированные клеточные органеллы – гидрогеносомы, подобно митохондриям, обеспечивающие энергией клетки простейших. Изучение функционирования этих органелл позволяет рассматривать их в качестве мишеней для разработки антипротозойных препаратов. Мишенью для химиотерапии при лечении трипаносомозов могут служить процессы, связанные с особенностями гликолитического пути или уменьшением уровня энергетического субстрата, такого как глюкоза. Это приводит к быстрому снижению уровня АТФ в клетке паразита, общей потере подвижности и исчезновению трипаносом из кровотока инвазированного хозяина. Также мишенями для применения лекарств могут стать белки-транспортёры глюкозы расположенные в мембране паразита. В будущем исследования в области биохимии паразитических простейших могут привести к разработке эффективной химиотерапии протозоозов.

## რეზიუმე

პარაზიტული უმარტივესების მეტაბოლიზმის თავისებურებანი და ანტიპროტოზოული პრეპარატების შემუშავების შესაძლებლობანი (მიმოხილვა)

<sup>1</sup>ს. ლარინა, <sup>1</sup>ტ. სახაროვა, <sup>1</sup>ნ. ჩეპიშევი,  
<sup>1</sup>ი. ბერეჩიკიძე, <sup>2</sup>ნ. დერკაჩევა

<sup>1</sup>მოსკოვის ი. სეჩენოვის სახ. პირველი სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>მოსკოვის ა. ევდოკიმოვის სახ. სახელმწიფო სამედიცინო-სტომატოლოგიური უნივერსიტეტი, რუსეთი

პროტოზოოლოგიის ერთ-ერთი ყველაზე ნაკლებად შესწავლილ სფეროს წარმოადგენს პარაზიტული უმარტივესების მეტაბოლური პროცესები. პარაზიტების ბიოქიმიის კვლევა აუცილებელია პროტოზოოზების ეფექტური ქიმიოთერაპიის შემუშავებისათვის. დაქვეითებული უმარტივესების გარემოში მცხოვრებ ზოგიერთ ამიტოქონდრიულ ადამიანის პარაზიტს, როგორებიცაა *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas sp.*, აქვს სპეციალიზებული უჯრედული ორგანელები – ჰიდროგენოსომები. ისინი, მიტოქონდრიების მსგავსად, უმარტივესების უჯრედებს უზრუნველყოფს ენერჯით. ამ ორგანელების ფუნქციონირების შესწავლა შესაძლებელს ხდის მათ განხილვას ანტიპროტოზოული პრეპარატების შემუშავების სამიზნედ. ტრიპანოსომოზების ქიმიოთერაპიის სამიზნედ შეიძლება განხილული იყოს გლიკოლიზის თავისებურებებთან, ან ენერჯეტიკული სუბსტრატის - გლუკოზის შემცირებასთან დაკავშირებული პროცესები. ყოველივე ზემოაღნიშნული პარაზიტის უჯრედში იწვევს ატფ-ის დონის მკვეთრ შემცირებას, მოძრაობის უნარის ზოგად დაქვეითებას და ტრიპანოსომების გაქრობას ინვაზირებული მასპინძლის სისხლის მიმოქცევიდან. პრეპარატების გამოყენების სამიზნედ, ასევე, შეიძლება ჩაითვალოს პარაზიტის მემბრანაში განთავსებული გლუკოზის გადამტანი ცილები.

## DRUG-FREE MODALITIES OF IRON DEFICIENCY CONDITIONS IN UKRAINE

<sup>1</sup>Kuzminska E, <sup>1</sup>Omelchuk S., <sup>2</sup>Karlova E., <sup>1</sup>Grinzovskyy A.

<sup>1</sup>Bogomolets National Medical University, Kyiv; <sup>2</sup>P.L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

In recent years, the attention of specialists, working in various fields of health care, to the problem of healthy nutrition is growing rapidly. Acquiring modern knowledge and implementation of scientific developments and achievements

of the science of nutrition and dietology are a powerful factor in the prevention and treatment of non-communicable diseases (NCD), active longevity prolongation, and maintaining the emotional and mental well-being of the population [11].



Therefore, nutrition and its rational adjustment are given priority in various regions of the world, as reflected in the principles of European Policy “Health -2020: a European Policy Framework in Supporting Action Across Government and Society for Health and Well-Being” concerning non-communicable diseases for the period up to 2020 [11].

Therefore, many countries cultivate positive attitude of society to the need to prevent disease and behavior that will help to reduce the frequency and prevalence of pathologies caused by nutrition, including a numerous class of diseases of microelement etiology – a shortage of essential minerals in a body. The most well-known hypomicroelementosis is iron deficiency, leading to the development of iron deficiency states (IDS), which every fifth inhabitant of the planet suffers from. Therefore, the prevention of IDS is one of the most topical and urgent issues of modern medicine [1-3,8,12-14].

Most commonly, iron deficiency (ID) occurs in women of childbearing age [1,2,5,7,9,12,14], who due to their physiological characteristics have hemoglobin concentration rates on average 10-15% lower than in men. An average woman spends about 40 mg of iron during a normal menstrual period.

Taking into account the abovementioned information and the fact that iron absorption in the gastrointestinal tract is limited and normally constitutes up to 2 mg per day, it can be concluded that in the absence of adequate intake of iron, the deficiency in this trace mineral in women constitutes 10-20 mg per month, and 120-240 mg per year. All this leads to the fact that a woman may become to suffer from anemia in a few years. A requirement of iron for adult men does not exceed the intake, and they can live on iron deficiency diet for 6 years before becoming to suffer from IDS. The occurrence of anemia in men can be explained by chronic blood losses or iron absorption inability, rather than iron deficiency diet.

Therefore, a significant number of cases of IDS, such as iron deficiency anemia (IDA) and latent (hidden) iron deficiency (LID), is accounted for women of childbearing age, that has a negative impact on their immunity, physical and mental activity, violation of the cardiovascular, reproductive, hematopoietic and other systems [4,5,7,8,11,13].

So IDS is caused by many external and internal factors, among which a dietary factor is the most important, namely the lack of iron income to the gastrointestinal tract together with food.

The purpose of the study was a scientific justification of recommendations for public and individual primary and secondary prevention of IDS of nutritional origin in young women based on the identification of nutritional risk factors.

**Material and methods.** The object of the study were 204 women living in Kyiv city (Ukraine), aged from 16 to 29 years with no obvious non-nutritional factors of iron deficiency (pregnancy, childbirth, infant feeding, abnormal bleeding, injuries, surgery, organ donation, diseases related to ID, etc.), and were studying or working at the time of the survey.

We used three kinds of polling cards (open active; anonymous and open passive questionnaires with a weekly set of basic foodstuffs and with a 7-day diet of the surveyed – to obtain data on body iron intake in the diet), samples of peripheral red blood cells (hemoglobin, erythrocytes, cell-color ratio, the average content of hemoglobin, etc.), and samples of venous blood of the surveyed (biochemical indicators of iron metabolism: serum iron, total serum iron-binding capacity, latent (indirect) serum iron-binding capacity, transferrin saturation ratio) –to diagnose the iron deficiency degree in women. 2083 laboratory investigations were conducted in total.

By using computer processing, 446 card profiles and 728 nutritious rations of the surveyed were analyzed for 40 nutrients identified as the most important parameters influencing the development of the IDS.

Thus, the scientific data were obtained by three-stage questioning, primary and secondary screening including clinical and physiological, physical and chemical, laboratory and statistical research methods (to identify and to analyze correlation and results reliability degree).

**Results and their discussion.** It is established that the IDS incidence reaches 41.6% of the surveyed group. IDA have been registered for 31.1% of the surveyed subjects.

According to the degree of iron deficiency, anemia in women are distributed as follows: mild - 96.9%; average - 3.1%; severe - is absent.

Evaluation of actual nutrition of women indicates insufficient intake of easily digestible iron consumed with food (meat and meat products, liver, fish). Thus, the average daily consumption of meat and meat products is 15.3% below physiological levels of food consumption in Ukraine, fish – 50.8%.

According to nutrimental composition evaluation of the actual daily average diet of a woman in comparison to adequate physiological needs of the population in the nutrients and energy, it was found that protein intake is increased by 11.5%, mainly due to plant products. Fats consumption exceeds the normal rate by 34.2%, mainly due to plant products (by 37.6%) too. Also, consumption of simple carbohydrates is increased by 40.3%. It was found out an insufficient intake of complex carbohydrates, potassium, magnesium, riboflavin, biotin, pantothenic acid, folacin, which are iron absorption synergists.

Though women diet has sufficient iron content (20.02 mg), but its quality characteristic does not meet the needs of a body in the required amount of iron. The amount of easily digestible (heme) iron is only 13.9%. The greatest amount of iron income to the respondents' bodies together with: vegetables (19.4%), fruit and berries (17.3%), rye bread (13.8%), tea (9.3%) and cereals (6.7%). Thus, only 2/3 of a total amount of diet iron (66.5%) incomes to a digestive tract together with the above food. But, the impact of that amount of iron on the state of red blood cells is negligible. Iron of milk, eggs, bread, bakery products, cereals, vegetables, and beverages such as tea, coffee is poorly absorbed in the gastrointestinal tract – only 0.5-6%.



This is caused by intake of a significant amount of non-nutritional iron absorption factors, such as phytin compounds, tannins, phosphates, excessive inflow of fiber, fats, unfavorable nutrients ratio, together with the above food. Iron of meat has a much higher absorption - up to 20%. But in respect of sausages, one must pay attention to muscle protein content (not less than 15%), as adding low-grade conjugate tissue protein, plant protein (legumes), dairy product casein-calcium phosphate complex (combine with iron into insoluble compounds) and egg products (presence of phosphytin) to ground beef impairs the body absorption of iron. A weaker influence of blood pudding iron-on red blood compared to meat and liver iron may be due to sporadicness and a very small number of actual consumption of blood pudding by women (7.4 g per week) ( $p>0.05$ ), while rather long inflow of this product to the body is needed for the manifestation of positive action. Generation of poorly soluble muriatic hematin in the stomach, preventing proper absorption of iron, make a contribution to the above effect.

A correlation analysis clearly highlights non-nutritional factors ( $p < 0.01$ ), which negatively interfere with the processes of iron absorption and metabolism in a woman's body. This includes beverages such as tea, coffee (Table 1).

This is due to the presence of powerful iron absorption antagonists - tannin, oxalic acid, - in these drinks (diet factors reducing Iron absorption - tannins, excessive income of dietary fiber, fat; alkaline mineral water, salts of phytic, phosphoric, oxalic acids; polyphenol compounds, soy protein, vitamin deficiencies, antacids, etc.).

A number of meat consumption by women has a statistically significant direct impact on all indicators of a body iron supply (Table 1). A significant contribution to a red blood status makes a consumption of liver, sausages of minced meat and fish (diet factors increasing iron absorption - sulfur-containing amino acids of meat and fish; ascorbic and citric acids, retinol, folic acid, riboflavin, cyanocobalamin; cobalt, copper, etc).

This is explained by the presence of readily available iron - a naturally chelated form ( $Fe^{2+}$ ) - in natural meat and fish. Chelation is a process in which minerals are associated with amino acids and that converts these minerals into the most

digestible form. Assimilation of chelated minerals is three - ten times higher than of non-chelated [1,4,6-8].

The obtained data allowed to make the necessary adjustments in the construction of an adequate and complete product and the nutritional compound of a diet that provides an adequate intake of essential nutrients and allows to prevent nutritional iron deficiency (Table. 2).

However, it should be noted that the abovementioned food package is preventive on the occurrence and progression of nutritional ID and may be recommended as a part of dietary therapy in case of IDS along with drug therapy, which involves the use of iron supplements, multivitamin preparations etc. in order to supplement iron deficiency in the body faster.

A daily food package is developed, which provides the necessary qualitative and quantitative intake of iron given the effect of iron absorption synergists and antagonists.

We conducted a mathematical and statistical analysis of the obtained data and proposed a tentative diet to prevent IDS in women of childbearing age, which is recommended for the prevention and alimentary correction of IDS in this high-risk group.

Approximate diet (menu) to prevent IDS in women of childbearing age:

breakfast: 2 sandwiches: (whole-wheat bread - 80 g, butter- 10 g, cheese- 30 g, boiled or baked meat - 30 g), rose hip tea - 200 mL;

lunch: beetroot soup - 250 mL, bread - 80 g, buckwheat cereal - 300 g, stewed beef - 80 g, stewed fruits compote (dried fruits compote) or juice - 200 mL, cabbage, tomato, cucumber, onion and oil salad (5: 5: 5: 1: 1) - 200g;

afternoon luncheon: cheese casserole with raisins (15:1) - 150 g, fruit and berry jelly - 100 mL, orange - 50 g;

dinner: fried (saltwater) fish with carrots (7:1) - 80g, boiled potatoes - 150 g, seaweed salad - 50 g, rye-wheat bread - 80 g, pomegranate juice - 150 mL. The proposed menu selection is the result of many calculated options that corresponds to the developed food package.

Nutrient composition of the menu allows for developed standards and demonstrates adequate per day intake of iron and other nutrients which are iron assimilation synergists (complete proteins, vitamins C, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, A, β-carotene, biotin, folic acid, potassium and other) and

Table 1. The correlation relationship between the IDS and the level of consumption of tea and coffee by women, (r)

Food	Dependent IDS indicators		
	Hemoglobin	Red Blood Cells	Cell-Color Ratio
Meat, g	0.38**	0.18*	0.29**
Liver, g	0.30**	0.19*	0.16*
Sausage (meat protein content of at least 15%), g	0.36**	0.22**	0.19*
Blood pudding, g	0.04	- 0.01	0.05
Fish, g	0.16*	0.03	0.13*
All meat products, g	0.47**	0.24*	0.31**
Tea, mL	- 0.31**	- 0.23**	- 0.22*
Coffee, mL	- 0.15*	0,04*	- 0,11**

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

Table 2. Daily food set (optimum and range of fluctuations in grams (mL)/day) to prevent IDS of nutritional origin in women of childbearing age (in energy consumption of 2500-3000 kcal)

Product Name	Product Consumption (net)	
	Optimum	Fluctuations range
Meat, g	80	60-100
Liver, g	8	5-11
Sausages (the content of meat protein is not less than 15%), g	45	30-60
Meat products, g	130	90-180
Fish, g	30	20-50
Dairy Products (in milk equivalent), mL	400	300-450
Eggs, pcs.	0,5	0.4-0.6
Oil, g	30	27-35
Butter, g	25	20-30
Bread and bakery products, cereals, g	380	340-440
Potatoes, g	250	200-300
Vegetables, except potatoes, g	300	250-350
Sugar (mono or disaccharide), g	73	60-75
Fruits and berries, g	300	240-360
Tea, g	3.5	2.0-4.5
Coffee, g	3.0	2.5-5.0

iodine assimilation synergists, as well reduction of iron absorption antagonists income.

**Conclusions.** 1. IDS prevalence among women who had no non-alimentary grounds for the occurrence of iron deficiency (pregnancy, childbirth, baby nursing, blood loss, organ donation, surgery, trauma, etc.) is 41.6 of the group, including clear iron deficiency - iron deficiency anemia (31.3%), among which mild anemia prevails (96.9%).

2. The main nutritional risk factors of IDS are poor nutrition and unhealthy diet associated with inadequate intake of food containing heme iron (the average daily consumption of meat and meat products is even 15.3% below the minimum physiological level, of fish – 50.8%) and increased consumption of food containing significant amounts of demineralizing factors (tea, coffee, etc.).

3. Correlation analysis of data on the consumption of certain food products showed that a statistically significant positive impact on the performance of red blood cells and iron metabolism (the major indicators of iron deficiency) had such food products as meat, sausages, liver, fish, to a lesser extent – fruits and berries. Tea and coffee had a negative impact on key indicators of red blood cells. No statistically significant effect of bread, bakery and cereal products at the rates of an adequate iron supply of the respondents were found. Therefore, in order to prevent IDS of nutritional origin in risk groups at individually regulated and organized diet it is recommended to increase consumption of food products which are sources of heme iron (meat, liver, fish), and to reduce excessive consumption of tea, coffee that can be made at the approach of diet to the proposed preventive food packages and menus.

4. A daily food package and diet were proposed which

are designed for primary and secondary prevention of alimentary conditioned IDS in women.

## REFERENCES

1. Abashyn S. Yu. Iron Deficiency in Women and Opportunities of its Treatment // Gynecologic Oncology No. 1. - 2015. - P. 63-69.
2. Albok Ye.Y. Iron Deficiency Anemia - Globality of Problem, Modern Opportunities of its Treatment in Clinical Practice. // Scientific Bulletin of the Uzhhorod University, Series «Medicine», Issue 40. – 2011. – P. 205-210.
3. Nutrition Science. 2nd edition / Edited by A. Yu. Baranovskyi. - St. Petersburg: Peter, 2006. – 960 p.
4. Kostyuchenko L.N. Science of Nutrition in Gastroenterology: Manual for doctors / L. N. Kostyuchenko et al. – M.: OOO «MK», 2013. – 432 p.
5. Martynchyk A. N. General Science of Nutrition: Manual / A. N. Martynchyk, I. V. Minaev, O. O. Yanushevych. – M.: MEDpress-inform, 2005. – 392 p.
6. Rebrov V.H. Treatment and Prevention of Iron Deficiency States / V. H. Rebrov, O. A. Kononova, I. Yu. Torshyn, E. Yu. Yehorova // Medical Almanac. – 2010. – No. 4. – P. 101-103.
7. Salhanova A. B. Ferritin as an Indicator of Iron Status Biology Monitoring Among the Groups of High Risk // Journal of KRSU. – 2015. – Volume 15. – No. 7. – P. 143-145.
8. Kharchenko N.V. Dietetics: Textbook. / N. V. Harchenko, H. A. Anokhina and others. – Kyiv: «Meridian» Publishing house, 2012. – 528.
9. Tsypryan V. I. Food Hygiene with Basics of Science of Nutrition: Textbook. – In 2 Vol. / T. I. Anistratenko, T. M. Bilko, O. Blahodarova, V. I. Tsypryan and others. – K: Medycyna, 2007. – 528.
10. Adamson J. Iron deficiency and other hypoproliferative anemias in Harrison's Principles of Internal Medicine, D.L. Kasper, E. Braunwald, A.S. Fauci et al., Eds., chapter 90, part 5, section 2, McGraw Hill, New York, NY, USA, 16th edition, 2005
11. Health 2020: a European policy framework supporting action across government and society for health and well-being, WHO Regional Office for Europe, 2012 [http://www.euro.who.int/data/assets/pdf\\_](http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_)

12. National Institutes of Health (NIH) (2010) Dietary Supplement Fact Sheet: Iron. Bethesda, MD: Office of Dietary Supplements. National Institutes of Health <http://ods.od.nih.gov/factsheets/iron/>  
13. Resolution: "Addressing key public health and health poli-

cy in Europe: moving towards in the quest for better health in WHO European Region. EUR/RC60/R4.

14. World Health Organization. Report: Priorities in the Assessment of Vitamin A and Iron Status in Populations, Panama City, Panama, 15-17 September 2010. Geneva; 2012.

## SUMMARY

### DRUG-FREE MODALITIES OF IRON DEFICIENCY CONDITIONS IN UKRAINE

<sup>1</sup>Kuzminska E., <sup>1</sup>Omelchuk S., <sup>2</sup>Karlova E., <sup>1</sup>Grinzovskyy A.

<sup>1</sup>A Bogomolets National Medical University, Kyiv;

<sup>2</sup>P.L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

The article is devoted to studying the impact of nutritional factors on the occurrence and progression of iron deficiency states (IDS) in young women and developing the main alimentary methods of their prevention. The revealed IDS prevalence among women aged from 16 to 29 years without non-alimentary reasons for the occurrence of iron deficiency is 41.6%, among which latent iron deficiency – 10.3%, clear iron deficiency (anemia) – 31.3%. It was found out that the strongest positive impact on the performance of red blood cells and iron metabolism produce had such food products as meat, sausages (the con-

tent of meat protein is not less than 15%), liver, fish and fruits. Tea, coffee, milk, eggs adversely affect the main indicators of the IDS. No statistically significant effect of bread, bakery and cereal products at the rates of an adequate iron supply of the respondents were revealed. A scientific rationale for a daily food package and diet designed for primary and secondary prevention of alimentary conditioned IDS in women is given.

**Keywords:** iron deficiency, iron, young women, diet, food, alimentary prevention.

## РЕЗЮМЕ

### НЕМЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРРЕКЦИЯ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ В УКРАИНЕ

<sup>1</sup>Кузьминская Е.В., <sup>1</sup>Омельчук С.Т., <sup>2</sup>Карлова Е.А., <sup>1</sup>Гринзовский А.М.

<sup>1</sup>Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев;

<sup>2</sup>Национальная медицинская академия последилового образования им. П.Л. Шупика, Киев, Украина

Целью исследования явилось изучение влияния алиментарных факторов на возникновение и развитие железодефицитных состояний (ЖДС) у молодых женщин и разработка мероприятий их алиментарной профилактики.

Изучена распространенность ЖДС среди женщин в возрасте от 16 до 29 лет, которые не имели неалиментарных причин для возникновения железодефицита. Выявлена распространенность ЖДС у данного контингента на уровне 41,6%, в том числе латентный железодефицит (ЛЖД) констатировали у 10,3% обследованных, а явный дефицит железа (анемия) – у 31,3%.

Установлено, что наибольшее положительное влия-

ние на показатели красной крови и обмен железа имеют такие продукты как мясо, мясная колбаса (не менее 15% мясного белка), печень, рыба, фрукты. Чай, кофе, молоко, яйца негативно влияют на основные показатели дефицита железа. Статистически значимого влияния овощей, хлебобулочных и крупяных изделий на показатели обеспеченности организма респондентов железом не выявлено.

Научно обоснован продуктовый набор пищевых продуктов и рацион питания для молодых женщин с целью первичной и вторичной профилактики ЖДС алиментарного происхождения.

## რეზიუმე

რკინადეფიციტური მდგომარეობების არამედიკამენტური კორექცია უკრაინაში

<sup>1</sup>ე. კუზმინსკაია, <sup>1</sup>ს. ომელჩუკი, <sup>2</sup>ე. კარლოვა, <sup>1</sup>ა. გრინზოვსკი

<sup>1</sup>ა. ბოგომოლცის სახ. ეროვნული სამედიცინო იუნივერსიტეტის, კიევი, უკრაინა;

<sup>2</sup>პ. შუპიკის სახ. დიპლომის შემდგომი განათლების ეროვნული სამედიცინო აკადემია, კიევი, უკრაინა

კვლევა ეძღვნება ალიმენტური ფაქტორების გავლენის შეფასებას რკინადეფიციტური მდ-

გომარეობის აღმოცენებასა და განვითარებაში სახლგაზრდა ქალებში და ღონისძიებების შე-

მუშავენ მათ აღიმენტური პროფილაქტიკისათვის. შესწავლილია რკინადეფიციტური მდგომარეობა 16-29 წლის ასაკის ქალებში, რომელთაც არ ჰქონდათ არააღიმენტური მიზეზები რკინის დეფიციტის განვითარებისათვის. ასეთი ტიპის კონტინგენტში რკინადეფიციტური მდგომარეობების გავრცელება გამოვლინდა 41,6%-ის ფარგლებში, მათ შორის ლატენტური რკინადეფიციტი დაუდგინდა გამოკვლეულთა 10,3%-ს, რკინის გამოსატული დეფიციტი კი - 31,3%-ს. დადგენილია, რომ ყველაზე მეტად

გამოსატული დადებითი გავლენა წითელი სისხლის შემადგენლობაზე და რკინის ცვლაზე აქვს ისეთ პროდუქტებს, როგორცაა ხორცი, ძეხვი (ხორცის ცილის არანაკლებ 15%-იანი შემცველობით), ღვიძლი, თევზი, ხილი, ხოლო ჩაი, ყავა, რძე, კვერცხი უარყოფითად მოქმედებს რკინის დეფიციტის ძირითად მახვენებლებზე. ბოსტნეულის, პურ-ფუნთუშეულის და მარცვლოვანი პროდუქტების სტატისტიკურად სარწმუნო გავლენა რესპოდენტების ორგანიზმის რკინით მარაგებაზე არ გამოვლინდა.

---

## NITRIC OXIDE SYNTHESIS INTENSITY ASSESSMENT BY THE CONTENT OF ITS TERMINAL STABLE METABOLITES IN THE BLOOD OF RATS UNDER FLUORIDE INTOXICATION

<sup>1</sup>Bagmut I., <sup>1</sup>Kolisnyk I., <sup>1</sup>Titkova A., <sup>2</sup>Babiy L., <sup>1</sup>Filipchenko S.

<sup>1</sup>Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education; <sup>2</sup>Kharkiv National Medical University, Ukraine

The degree of pathogenic effects in the development of stress-reaction is largely determined by the state of stress-limiting systems, in particular, the system of nitrogen oxide (NO). It has been proven that NO-dependent regulation of the central parts of the stress reaction is ensured by the fact that the pituitary gains a widely represented NO-ergic innervation from the hypothalamus [14, 18, 25]. The observed property NO of modulating the release of major stress hormones of the pituitary suggests an important role of NO in regulating its functioning and preventing excessive activation of the central link of the stress-system. There is evidence in the literature that NO can block the peripheral release of stress hormones and protect cells and organs from stress-related injuries [2, 12, 17, 28]. In particular, low concentrations of NO suppress the release of catecholamines from the adrenal glands and sympathetic nerve endings, resulting in the restriction of stress response [3, 11, 20, 22].

The final stable metabolites of NO include nitrite and nitrate anions (NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>), defining whose concentrations serve as an indirect method for assessing the intensity of NO synthesis [4, 8, 13, 26]. The concentration of NO is the main factor in its numerical bio-effects (regulatory, protective, damaging). At low concentrations of NO, direct effects aimed at maintaining homeostasis prevail, for example, vascular, respiratory and nervous systems, prevail; at high concentrations of NO – the indirect effects predominate, primarily due to the formation of peroxynitrite. It is known that when the velocity of free radical reactions increases in the body, NO can react with a superoxide anion radical to form peroxynitrite – a highly reactive compound with destructive properties in relation to proteins and lipids [5, 6, 21].

The aim of the research is to evaluate the intensity of nitric oxide synthesis in the experiment by the content of its terminal stable metabolites in the blood of rats exposed to sodium fluoride.

**Material and methods.** The studies were conducted on adult Wistar rats weighing 180-220 g, which were kept under steady state vivarium at constant temperature and natural light in plastic cages on a balanced diet. Rats were subjected to oral exposure by means of a probe with aqueous solutions of sodium fluoride (SF) daily for 60 days at a dose of 1/10, 1/100 and 1/1000 DL50, respectively, of 20 mg/kg, 2 mg/kg and 0.2 mg/kg body weight (average lethal dose of SF for rats, obtained orally, is 200 mg/kg). Animals of the control group were given appropriate amounts of drinking water. The study was conducted at 10, 20, 30, 50 and 60 days after the start of the experiment. Each group included 10 animals. Animals were euthanized by decapitation with a guillotine knife, pre-anesthetizing with sodium thiopental in a dose of 50 mg/kg of mass.

The content of nitrite and nitrate anions in blood plasma was determined spectrophotometrically at 540 nm by color reaction with Grissan reagent [7, 15, 23]. Before the analysis, precipitation of proteins 0.5 m KOH and 5% ZnSO<sub>4</sub> was carried out. Since diazotization reaction is specific to nitrites only, for the determination of nitrates, their previous recovery was carried out.

Statistical analysis of the results was performed using Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., USA). The comparison of two normal distributions was carried out using Student's t-test. If at least one of the distributions was not normal, Mann-Whitney Ranking criterion was used to compare independent samples. The critical level of significance was considered  $p < 0.05$ .



Table 1. The content of nitrite and nitrate anions in blood plasma of rats under the influence of sodium fluoride in subtoxic doses ( $n = 10$ ;  $Me [25\%; 75\%]$  or  $M \pm s$ )

Dose	Day of observation	Nitrite anions, mg / l	Nitrate anions, mg / l
1/10 DL50	10	0.43 [0.39; 0.46] $p < 0.001$	4.9 [4.5; 5.0] $p < 0.001$
	20	0.50 [0.45; 0.55] $p < 0.001$	5.5 [4.9; 5.9] $p < 0.001$
	30	0.39 $\pm$ 0.04 $p < 0.001$	5, 71 $\pm$ 0. 46 $p < 0.001$
	50	0.23 [0, 20; 0.27] $p = 0.001$	4.0 [3.8; 4.3] $p < 0.001$
	60	0.20 $\pm$ 0.03 $p = 0.002$	3.2 [2.7; 3.7] $p = 0.186$
1/100 D L50	10	0.39 [0, 37; 0.42] $p < 0.001$	3.95 [3. 6; 4.1] $p = 0.003$
	20	0.4 $\pm$ 0.05 $p < 0.001$	4.2 [3.9; 4.7] $p = 0.001$
	30	0.47 [0.44; 0.50] $p < 0.001$	4.69 $\pm$ 0.54 $p < 0.001$
	50	0.32 [0.30; 0.36] $p = 0.162$	3, 43 $\pm$ 0.42 $p = 0.089$
	60	0.19 $\pm$ 0, 03 $p = 0.001$	2.9 [2.7; 3.2] $p = 0.001$
COMPARISON	10	0.31 [0.26; 0.33]	3.4 [2.8; 3.6]
	20	0.26 [0.24; 0.30]	2.95 [2.6; 3.7]
	30	0.30 [0.28; 0.32]	3.5 [2.9; 3.7]
	50	0.36 $\pm$ 0.04	3.0 [2.8; 3.4]
	60	0.26 [0.25; 0.31]	3.6 [3.0; 3.9]

note:  $p$  is the level of statistical significance in relation to the comparison group

**Results and their discussion.** The intensity of NO synthesis in an organism of rats under prolonged fluoride intoxication were assessed by the plasma content of its terminal stable metabolites – nitrite and nitrate anions (reflecting the total response of all isoforms of NO-synthase). One week before the discovery of NO metabolites, vegetables were excluded from rats' diet in order to reduce nitrite-nitrate load.

In rats intoxicated with SF at a dose of 1/10 DL50, a significant ( $p < 0.001$ ), as relative to the comparison group of animals, increase in the level of plasma nitrite anions was observed on average by 43, 81 and 34%, respectively at 10, 20 and 30 days (Table 1). On the 50th and 60th days of observation, the content of nitrite anions in the plasma of blood of experimental animals, on the contrary, decreased by 31 and 26% ( $p \leq 0.002$ ) (Fig. 1).

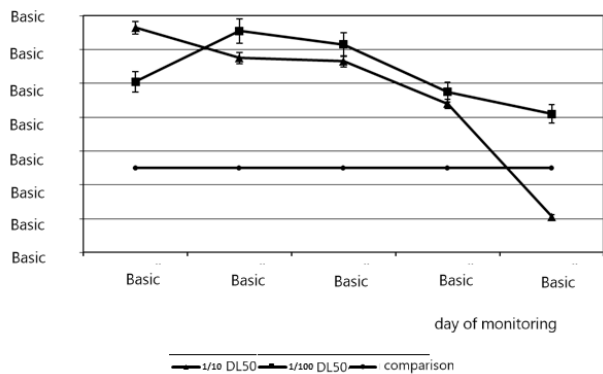


Fig. 1. Dynamics of changes in the content of nitrite anions (% in relation to the comparison group) in blood plasma of rats when toxified with sodium fluoride at doses of 1/10 and 1/100 DL50. Note: content in the comparison group of animals is considered 100%

The administration of SF to animals in a dose of 1/100 DL50 also led to a statistically significant ( $p < 0.001$ ) increase in plasma nitrite anion content at 10, 20 and 30 days of the experiment, respectively, by

32, 59 and 61%. At the 50th day, the level of nitrite anions approached the level of animals in the control group ( $p = 0.162$ ), and on the 60th day it decreased ( $p = 0.001$ ) by an average of 30% (Fig. 1).

The results showed statistically significant increase ( $p < 0.001$ ) as relative to the control comparison group of animals in the concentration of nitrate anions in the blood plasma of rats, which were administered SF at a dose of 1/100 DL50, at 10, 20, 30 and 50 days, respectively, by 45, 79, 71 and 34% (Table 1). At the 60th day of observation, the level of nitrate anions practically did not differ from the control group ( $p = 0.186$ ) (Fig. 2).

The effect of SF at a dose of 1/100 DL50 was accompanied by a gradual increase compared with the control of the content of nitrate anions in blood plasma of the experimental group of rats: on the 10th day on average by 22% ( $p = 0.003$ ), on the 20th day – by 39% ( $p = 0.001$ ), on the 30th day – by 41% ( $p < 0.001$ ). On the 50th day of observation, an increase in the level of nitrate anions was noted by 13%, but it was unlikely ( $p = 0.089$ ), whereas on the 60th day, on the contrary, a decrease of 17% was observed ( $p = 0.011$ ) (Fig. 2).

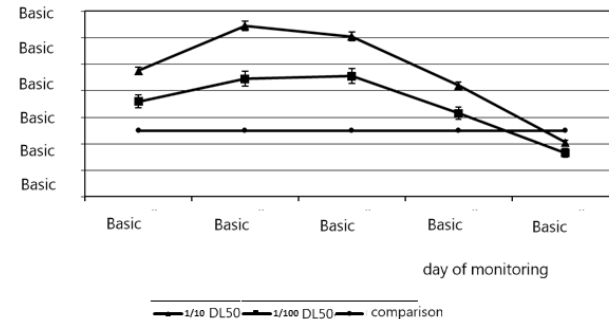


Fig. 2. Dynamics of changes in the content of nitrate anions (% in relation to the comparison group) in blood plasma of rats when toxified with sodium fluoride at doses of 1/10 and 1/100 DL50. Note: content in the control group of animals is considered 100%.

Thus, the observed increase in plasma nitrite content and nitrate anions under the action of SF in doses of 1/10 and 1/100 DL50 indirectly indicates the excessive production of NO that in terms of the initial intoxication can perform a compensatory role, but subsequently is transformed in a pathological reaction with activation of oxidative stress. As a rule, excess levels of terminal stable NO metabolites are associated with hyperexpression of the inducible isoform NO-synthase (iNOS) resulting from oxidative stress. iNOS produces NO in the amount of several orders of magnitude higher than NO productions by endothelial isoform of NO-synthase and stimulates the formation of free radicals [4,5]. As a result, more NO amounts are formed, which is confirmed by an increase in the content of its final products.

The observed reduction of nitrite and nitrate anions at the end of a long-acting SF exposure indirectly indicates a decrease in NO generation, which may be due to several reasons, such as inhibition of NO-synthase, peroxy-nitrite concentration increase resulting from use of NO in reaction with a superoxide anion radical, deficiency of enzymes of the antioxidant system, a decrease in the precursor of NO synthesis – arginine or the basic cofactor of NO-synthase – tetrahydrobiopterin and others [7,9,29].

**Conclusions.** Oral administration of SF to rats at doses of 1/10 and 1/100 of DL50 leads to an increase in blood plasma levels of nitrite and nitrate anions during the first 30 days, indirectly indicating the excessive production of nitric oxide, which in the initial period of intoxication can perform compensatory role, but in the future can cause pathological reactions associated with the activation of oxidative stress. The reduction of nitrite and nitrate anions at the end of the long-term effects of SF indirectly indicates a decrease in the generation of nitric oxide, which may be due, in particular, to the increase in the concentration of peroxy-nitrite as a result of the use of nitric oxide in reaction with a superoxide anion radical and a deficiency of antioxidant enzymes.

## REFERENCES

1. Багмут И.Ю., Жернова М.С., Жарова Н.В., Колесник И.Л., Попова Т.М., Погорелов В.В., Аполонина А.В., Титкова А.В. Вміст нейромедіаторів у печінці і головному мозку під впливом на організм простих полієфірів // Матеріали XII міжнародної науково-практичної конференції «Эффективные инструменты современных наук». – 22-30 апреля 2016 г. – Прага, «Education and Science», 2016. – Т. 12. – С. 25-26.
2. Багмут И.Ю., Жарова Н.В., Колесник И.Л., Попова Т.М., Погорелов В.В., Аполонина А.В., Титкова А.В. Вплив ксенобіотиків на систему циклічних нуклеотидів в експерименті // Матеріали XII міжнародної науково-практичної конференції «Европейская наука XXI века – 2016». – 07-15 мая 2016 г. – Пржемысль, «Наука і студія», 2016. – Т. 12. – С. 20-21.
3. Значение определения нитритов-нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии / Л.А. Лапшина, П.Г. Кравчун, А.Ю. Титова, О.В. Глебова // Укр. медичний часопис. – 2009. – № 6 (74). – С. 49-53
4. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Оксид азота в регуляции

- активности функциональных систем // Росс. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. – 2000. – Т. 10, № 4. – С. 16-216
5. Каримова Р.Г., Билалов И.Н., Гарипов Т.В. Влияние различных факторов на продукцию оксида азота в организме крыс // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1. – С. 53-57.
6. Ковалева О.М., Демиденко Н.В., Горбач Т.В. Диагностика эндотелиальной функции – оценка вазоактивного пула оксида азота. – К.: 2007. – С. 17.
7. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – С. 24-29
8. Малышев И.Ю., Манукина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. – 1998. – Т. 63, Вып. 7. – С. 992-100
9. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека // Лаб. медицина. – 2005. – № 7. – С. 19-24.
10. Оцінка показників системи біогенних моноамінів і циклічних нуклеотидів під впливом під гострої дії простих полієфірів / І.Ю.Багмут, М.С. Жернова, Н.В. Жарова, І.Л. Колесник, Т.М. Попова, В.В. Погорелов, А.В. Аполонина, А.В. Тіткова // Матеріали XII міжнародної науково-практичної конференції «Ключевые вопросы в современной науке – 2016». – 15-22 апреля 2016 г. – София, «Бял ГРАД-БГ»ООД, 2016. – Т. 19. – С. 36-38.
11. Попова Т.М., Жарова Н.В., Колесник И.Л., Аполонина А.В., Погорелов В.В., Титкова А.В., Багмут И.Ю., Жуков В.И. Типовые патохимические реакции повреждающего действия детергентов как источников образования радиотоксиканов // Проблемы экологии та медицини. – 2015. – Т. 19. – № 5-6. – С. 11-16.
12. Atmaca N. Effect of resveratrol on hematological and biochemical alterations in rats exposed to fluoride // BioMed. Res. Int. – 2014.
13. Bagmut I., N. Klimentko, N. Zharova, I. Kolisnik, V. Pohorielov, T. Popova, A. Apolonina, A. Titkova The influence of oligoethers on the immunological and biological reactivity of experimental animals // Materials of the XII international scientific and practical conference «Cutting-EDGE Science – 2016». – 30 апреля – 7 мая 2016 г. – Шеффилд, Великобритания, «Science and education», 2016. – Т. 11. – С. 24-25.
14. Bagmut I.Yu., Kolisnyk I.L., Titkova A.V., Rezenenko Yu.K., Boiagina O.D. The status of free radical processes and lipid peroxidation in rats' liver during the subtoxic action of sodium fluoride // Educational Researcher, Dec. 2017. – Issue 9 (2). – P. 655-661.
15. Bagmut I.Yu., Kolisnyk I.L., Titkova A.V., Rezenenko Yu.K., Filipchenko S.N. The phospholipid composition of hepatocytes' membranes during fluoride intoxication // International Health, Nov. 2017. - Issue 6 (2). - Vol. 9. - P. 1485-1489.
16. Do corticosteroids damage the brain? / J. Herbert, I.M. Goodyer, A.B. Grossman [et al.] // J. of Neuroendocrinology. – 2006. – Vol. 18. – P. 393-411.
17. Jena C.K., Gupta A.R., Patra R.C. Protective effect of moringa oleifera on haematological and biochemical parameters of cattle from industrial fluoride polluted area // J. Anim. Res. – 2016 - Vol. 6(1). - P. 91.
18. Jin L, Qin L, Xia D, Liu X, Fan Z, Zhang C, Gu L, He J, Ambudkar IS, Deng D, Wang S. Active secretion and protective effect of salivary nitrate against stress in human volunteers and rats // Free Radic Biol Med. – 2013 - Vol. 57. – P. 61-67.
19. Kolisnyk I.L., Bagmut I.Yu., Titkova A.V., Rezenenko Yu.K., Marakushyn D.I. The stage of glutathione system in rats' liver with sodium fluoride in subtoxic doses // BioScience, Dec. 2017. – Issue 12 (2). – Vol. 67. – P. 1532-1538.
20. Meena C. Assessment of Non-skeletal fluorosis in children of Jaipur district of Rajasthan, India // Int. Jo. Sci. Res. – 2017. - Vol. 5(12).
21. Morita M, Naito Y, Yoshikawa T, Niki E. Plasma lipid oxidation

- induced by peroxynitrite, hypochlorite, lipoxygenase and peroxy radicals and its inhibition by antioxidants as assessed by diphenyl-1-pyrenylphosphine // *Redox Biol.* – 2016. - Vol. 8. – P. 127-135.
22. Pereira A.G. Effects of fluoride on insulin signaling and bone metabolism in ovariectomized rats // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2017. - Vol. 39- P. 140–146.
23. Popova T.M., Bagmut I.Yu., Titkova A.V., Philipchenko S.M., Shepylieva N.V. The influence of sub-toxic dose xenobiotics on immune response of experimental animals // *Journal of Education, Health and Sport.* – 2016. - Vol. 6(11). – P. 629-639.
24. Santoyo-Sanchez M.P. Effects of acute sodium fluoride exposure on kidney function: water homeostasis, and renal handling of calcium and inorganic phosphate // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2013. - Vol. 152(3). - P. 367–372.
25. Stasiuk O.A., Kostenko V.O. Effect of peroxynitrite scavengers on oxidative processes in salivary gland tissues of white rats under sodium nitrate and fluoride combined excessive intake // *Probl Ecol Med.* – 2012. - Vol. 16(5-6). - P. 30-33.
26. Titkova A.V., Kolisnyk I.L., Bagmut I.Yu., Rezenenko Yu.K., Boiagina O.D. The enzymatic activity of microsomes in rats' hepatocytes by fluoride intoxication // *The XVI International Academic Congress "Fundamental and Applied Studies in the Modern World", United Kingdom, Oxford, 23-25 October, 2017.* - P. 58-64.
27. Titkova A.V., Kolisnyk I.L., Bagmut I.Yu., Rezenenko Yu.K., Boiagina O.D. The respiratory activity of hepatocytes' mitochondria in rats under the long-term of sodium fluoride // *British Medical Bulletin, Dec. 2017.* –Issue 1 (2).- Vol. 124. - P. 792-796.
28. Wang Y, Loake GJ, Chu C. Cross-talk of nitric oxide and reactive oxygen species in plant programmed cell death // *Front Plant Sci.* – 2013. - Vol. 4. – P. 314.
29. Wimalawansa S.J. Nitric oxide: new evidence for novel therapeutic indications // *Expert. Opin. Pharmacother.* – 2008. – Vol. 9. – № 11. –P. 1935-1954.

## SUMMARY

### NITRIC OXIDE SYNTHESIS INTENSITY ASSESSMENT BY THE CONTENT OF ITS TERMINAL STABLE METABOLITES IN THE BLOOD OF RATS UNDER FLUORIDE INTOXICATION

<sup>1</sup>Bagmut I., <sup>1</sup>Kolisnyk I., <sup>1</sup>Titkova A., <sup>2</sup>Babiy L., <sup>1</sup>Filipchenko S.

<sup>1</sup>*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education;*  
<sup>2</sup>*Kharkiv National Medical University, Ukraine*

The aim of the research was to evaluate the intensity of nitric oxide synthesis in the experiment by the content of its terminal stable metabolites in the blood of rats exposed to sodium fluoride. The studies were conducted on adult Wistar rats weighing 180-220 g, subjected to oral exposure by means of a probe with aqueous solutions of sodium fluoride (SF) daily for 60 days at a dose of 1/10, 1/100 and 1/1000 DL50, respectively, of 20 mg/kg, 2 mg/kg and 0.2 mg/kg body weight. Oral administration of SF to rats at doses of 1/10 and 1/100 of DL50 leads to an increase in blood plasma levels of nitrite and nitrate anions during the first 30 days, indirectly indicating the excessive production of nitric

oxide, which in the initial period of intoxication can perform compensatory role, but in the future can cause pathological reactions associated with the activation of oxidative stress. The reduction of nitrite and nitrate anions at the end of the long-term effects of SF indirectly indicates a decrease in the generation of nitric oxide, which may be due, in particular, to the increase in the concentration of peroxynitrite as a result of the use of nitric oxide in reaction with a superoxide anion radical and a deficiency of antioxidant enzymes.

**Keywords:** nitric oxide, terminal stable metabolites, fluoride intoxication

## РЕЗЮМЕ

### ОЦЕНКА ИНТЕНСИВНОСТИ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА ПО СОДЕРЖАНИЮ ЕГО КОНЕЧНЫХ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В КРОВИ КРЫС ПРИ ФТОРИДНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

<sup>1</sup>Багмут И.Ю., <sup>1</sup>Колесник И.Л., <sup>1</sup>Титкова А.В.,  
<sup>2</sup>Бабий Л.Н., <sup>1</sup>Филипченко С.Н.

<sup>1</sup>*Харьковская медицинская академия последипломного образования;*<sup>2</sup>*Харьковский национальный медицинский университет, Украина*

Целью исследования явилась оценка интенсивности синтеза оксида азота в эксперименте по содержанию его конечных стабильных метаболитов в крови крыс, находящихся под воздействием фторида натрия. Исследования проводились на половозрелых крысах Вистар, весом 180-220 г, которых подвергали пероральному воздействию с помощью зонда с водными растворами фторида натрия ежедневно в течение 60 дней в дозе 1/10, 1/100 и 1/1000 DL50 соответственно, 20 мг /кг, 2 мг/кг и 0,2 мг/кг массы тела. Пероральное введение фторида натрия крысам в дозах 1/10 и 1/100 DL50 приводит к увеличению уровней нитратных и нитритных анионов в плазме крови в течение первых 30 дней, косвенно указывающих на чрезмерное производство оксида азота, которое в начальном периоде интоксикации, выполняя компенсаторную роль, в будущем может вызывать патологические реакции, связанные с активацией окислительного стресса. Восстановление нитритных и нитратных анионов в конце долгосрочных эффектов фторида натрия косвенно указывает на уменьшение образования оксида азота, что, по всей вероятности, связано с увеличением концентрации пероксинитрита в результате использования оксида азота в реакции с супероксидным анионным радикалом и дефицитом антиоксидантных ферментов.

## რეზიუმე

აზოტის ოქსიდის ინტენსიურობის შეფასება სისხლში მისი საბოლოო სტაბილური მეტაბოლიტების შემცველობის მიხედვით ფტორით ინტოქსიკაციის შემთხვევაში ექსპერიმენტში

<sup>1</sup>ი. ბაგმუტი, <sup>1</sup>ი. კოლესნიკი, <sup>1</sup>ა. ტიტკოვა, <sup>2</sup>ლ. ბაბი, <sup>1</sup>ს. ფილიპენკო

ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია; ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

ექვლევის მიზანს წარმოადგენდა აზოტის ოქსიდის სინთეზის ინტენსიურობის შეფასება მისი საბოლოო სტაბილური მეტაბოლიტების შემცველობის მიხედვით მისი ფტორით ინტოქსიკაციის შემთხვევაში ექსპერიმენტში.

ექვლევა ჩატარდა 180-200 გრ წონის ვისტარის ზრდასრულ ვირთაგვაზე, რომლებიც ყოველდღიურად 60 დღის განმავლობაში პერორალურად

ზონდის მეშვეობით დებულობდნენ ფტორიდის წყალხსნარს (1/10, 1/100 და 1/1000 DL50). შესაბამისად, 20 მგ/კგ, 2 მგ/კგ და 0.2 მგ/კგ. 1/10 და 1/100 DL50 დოზით ვირთაგვებში ნიტრუმის ფტორიდის შეყვანამ გამოიწვია ნიტრატისა და ნიტრიტის ანიონების დონის მატება შრატში პირველი 30 დღის განმავლობაში, რაც ირიბად მიუთითებს აზოტის ოქსიდის მომატებულ წარმოქმნაზე; აღნიშნულია ინტოქსიკაციის საწყის პერიოდში, ასრულებს რა კონპენსატორულ როლს, მომვალში შეიძლება გამოიწვიოს პათოლოგიური რეაქციები ჟანგვითი სტრესის აქტივაციასთან დაკავშირებით. ნიტრიტისა და ნიტრატის ანიონების აღდგენა ნიტრუმის ფტორიდის გრძელვადიანი ეფექტის შედეგად ირიბად მიუთითებს აზოტის ოქსიდის წარმოქმნის შემცირებაზე, რაც, სავარაუდოა, დაკავშირებულია პეროქსინიტრიტის კონცენტრაციის მატებასთან, აზოტის ოქსიდის სუპეროქსიდურ ანიონურ რადიკალთან რეაქციაში გამოყენების შედეგად და ანტიოქსიდანტური ფერმენტების დეფიციტით.

## ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПОТОМКОВ ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ОБЛУЧЕНИЮ В РЕЗУЛЬТАТЕ ИСПЫТАНИЙ ЯДЕРНОГО ОРУЖИЯ В КАЗАХСТАНЕ

Манатова А.М., Семенова Ю.М., Пивина Л.М., Белихина Т.И., Булегенов Т.А.

*Государственный медицинский университет г. Семей, Республика Казахстан*

Качество жизни является одной из наиболее значимых интегральных характеристик функциональной деятельности человека, включающей физиологический, психологический и социальный компоненты [10]. Оценка влияния факторов окружающей среды на качество жизни населения относится к общепринятым в международной практике методам исследования состояния здоровья, как на индивидуальном, так и на популяционном уровнях [12, 21].

В результате сорокалетних испытаний ядерного оружия на Семипалатинском ядерном полигоне (СИЯП) территории, прилегающие к полигону, были загрязнены радиоактивными осадками, а население подвергалось острому внешнему облучению в дозах 0,25-2,0 Гр и хроническому внутреннему облучению в диапазоне малых доз. Испытания вовлекли в орбиту радиозоологической катастрофы сотни тысяч человек. Долгосрочный характер катастрофы изначально определял формирование острых, ранних и отдаленных медико-демографических последствий [16, 19, 20, 25, 30, 36].

После закрытия СИЯП в 1989 году на радиационно-загрязненных территориях Восточно-Казахстанской области остались нерешенными многие социаль-

ные и экономические вопросы. В средствах массовой информации появилось множество сведений, не всегда достоверно отражающих реальную ситуацию относительно последствий радиационного воздействия в отношении здоровья населения [1, 14, 27].

По данным казахстанских и международных исследователей, одно из лидирующих мест в структуре стрессовых факторов, связанных с испытаниями ядерного оружия, занимает неадекватное информирование населения о последствиях радиационного воздействия с формированием радиотревожности [7, 8, 9, 23]. Многочисленные публикации в средствах массовой информации, поток отечественных и иностранных делегаций до настоящего времени являются причиной тревоги, социальной дезадаптации и вызывают состояние стресса среди населения, проживающего на экологически неблагоприятных территориях. Вышеизложенное обуславливает высокие уровни психосоматических нарушений, снижение специфической резистентности организма и ухудшение здоровья населения [26, 28, 35]. В литературе практически отсутствуют данные о качестве жизни декретированного в результате ядерных испытаний населения.



Необходимо отметить, что на уровень социально-психологической напряженности населения пострадавших районов кроме радиационных оказали влияние и нерадиационные факторы. Радиоактивное загрязнение серьезно отразилось на социально-экономическом развитии радиационно-загрязненных территорий, так как на них был введен жесткий ограничительный режим. Были ограничены капитальные вложения в социальную сферу этих районов. На ухудшение уровня качества жизни населения радиационно-загрязненных территорий сказалось и тяжелое социально-экономическое положение, сложившееся после распада СССР [11,40,41].

Целью настоящего исследования явилось оценить качество жизни потомков лиц, подвергшихся радиационному воздействию в результате испытаний ядерного оружия на Семипалатинском ядерном полигоне, на основе изучения физических и психологических характеристик здоровья.

Исследование проведено в рамках выполнения научно-технической программы «Разработка научно-методологических основ минимизации экологической нагрузки, медицинского обеспечения, социальной защиты и оздоровления населения экологически неблагоприятных территорий Республики Казахстан» 2017-2019 гг.

**Материал и методы.** Проведено исследование качества жизни экспонированного радиацией населения с. Караул Абайского района Восточно-Казахстанской области (ВКО), (n=233) в возрасте 18-50 лет, с. Бородулиха Бородулихинского района ВКО, (n=222), в качестве контрольной группы исследовано население с. Курчум Курчумского района ВКО (n=245) с выездом на место проживания исследуемых лиц. Информация о принадлежности обследуемых лиц к группам радиационного риска и индивидуальных дозах облучения подтверждена данными Государственного научного автоматизированного медицинского регистра населения Казахстана, подвергшегося радиационному воздействию (ГНАМР).

Критериями включения в группу исследования являлись возраст 18-50 лет, юридически подтвержденное проживание родителей (бабушек, дедушек) на территории влияния СИЯП в период испытаний ядерного оружия (в соответствии с базой данных ГНАМР), территориях экологического риска. Кри-

терии исключения: органическое поражение ЦНС, соматические заболевания в стадии декомпенсации; наличие вирусного гепатита В и С в анамнезе; лица, по различным причинам не имеющие отношения к испытаниям ядерного оружия на СИЯП. Контрольную группу составили лица, постоянно проживающие на территории Курчумского района ВКО, не имеющие соприкосновения с радиационной ситуацией прошлых лет.

На проведение исследования получено одобрение Этического комитета Государственного медицинского университета г. Семей, протокол № 6 от 27.04.2017 г. От лиц, проживающих на данных участках получено информированное согласие на включение в исследование.

Подавляющее число обследованных лиц во всех исследуемых районах представлено лицами женского пола (75,1%), что, очевидно, обусловлено более высокой мотивацией участия в подобных исследованиях. Возрастной состав обследованного населения представлен в таблице 1. Данные свидетельствуют о приблизительно одинаковом возрастном составе в группах исследования и контрольной группе.

Национальный состав обследованных лиц из Абайского района был представлен на 100% казахами, Бородулихинского района - 65,1% населения, включенного в исследование, были казахами, остальные жители имели русскую или немецкую национальность, в Курчумском районе также преобладало казахское население – 98,0%. Такое распределение этносов в группах исследования свидетельствует о приблизительно одинаковом укладе жизни и пищевых привычек у жителей Абайского и Курчумского районов.

Подавляющее большинство лиц, включенных в группы исследования, проживали в данной местности с рождения (71,2%), также, как и их родители, что позволяет определить их принадлежность к группам радиационного риска или к группе контроля.

Наибольшее количество лиц с высшим образованием было в Абайском районе, наименьшее – в Бородулихинском районе, где, как и в контрольном районе, преобладали лица со средним специальным образованием. В группе исследования большая часть – 76,9% (350 из 455) испытали воздействие облучения в детстве, 109 (23,9%) были рождены от облученных родителей.

Таблица 1. Возрастное распределение лиц, вошедших в группы исследования

Районы	Возрастные группы		Всего
	18-34 лет	35-51 лет	
Бородулихинский	81 (36,5%)	141 (63,5%)	222 (100,0%)
Абайский	112 (48,1%)	121 (51,9%)	233 (100,0%)
Курчумский	90 (36,7%)	155 (63,3%)	245 (100,0%)
Итого	283 (40,4%)	417 (59,6%)	700 (100,0%)

Таблица 2. Показатели доз облучения обследованных лиц

Район	Среднее значение (мЗв)	Me; Q1; Q3
Индивидуальные дозы облучения в группе потомков первого поколения		
Абайский	7,53	6,37; 2,62; 12,26
Бородулихинский	2,8	1,78; 0,35; 4,22
Средние дозы облучения родителей в группе потомков второго поколения		
Абайский	96,75	80,74; 35,16; 178,17
Бородулихинский	26,73	11,40; 0; 35,26
Средние дозы облучения дедушек и бабушек в группе потомков второго поколения		
Абайский	56,40	0; 0; 100,0
Бородулихинский	20,64	0;0; 32,96

В таблице 2 представлены индивидуальные дозы облучения для потомков первого поколения лиц, подвергшихся прямому облучению, а также дозы облучения родителей, бабушек и дедушек для потомков второго поколения. Максимальные дозы облучения были установлены для исследуемых жителей Абайского района, в 2,7 раз превышающие дозы жителей Бородулихинского района.

Определение качества жизни. Размер выборки рассчитывался исходя из числа жителей района, зафиксированных в ГНАМР (генеральная совокупность для группы исследования) и из числа лиц, чьи родители (бабушки, дедушки) постоянно проживали на радиационно незагрязненной территории (Курчумский район) в период проведения испытаний на СИЯП. Для определения размера выборки применена статистическая программа Sample XS, 5% размер погрешности; дизайн-эффект по умолчанию рассматривался как 1,0.

Выборка была репрезентативна, то есть соответствовала по основным характеристикам изучаемой популяции как по возрасту, полу, так и по социально-профессиональной принадлежности. Статистическая обработка: IBM SPSS Statistics 20, с определением нормальности распределения изучаемых признаков и оценкой описательных статистик числовых переменных.

В качестве основного инструмента для оценки качества жизни исследуемых лиц применен опросник качества жизни SF-36 (Medical outcomes survey short form-36), который, согласно литературным данным, является одним из наиболее широко распространенных опросников, позволяющем судить об общем благополучии опрашиваемых, а также степени удовлетворенности различными аспектами их жизнедеятельности, связанными с состоянием здоровья (физический и психологический компоненты). Опросник состоит из тридцати шести вопросов, сгруппированных по восьми категориям (ограничение физической активности, ограничение обычной ролевой активности ввиду проблем со здоровьем, ограничение обычной ролевой активности ввиду эмоциональных проблем, телесные боли, оценка общего здоровья, оценка жизнеспособности, социальное функционирование и общее психическое здоровье). Чем выше значение каждого отдельного показателя (идеальный показатель составляет 100 баллов), тем выше оценка качества жизни по конкретной шкале [31, 42, 43].

**Результаты и их обсуждение.** В таблице 3 представлены средние значения и стандартное отклонение (СО) различных параметров качества жизни населения Абайского и Бородулихинского районов, а также

Таблица 3. Показатели качества жизни населения исследуемых районов

Параметры качества жизни	Абайский (n = 233)	Бородулихинский (n = 222)	Курчумский (n = 245)
	Среднее ± СО	Среднее ± СО	Среднее ± СО
Физическое функционирование (PF)	82,85 ± 25,408	88,85 ± 15,491	89,37 ± 16,456
Роль физического функционирования (RP)	73,93 ± 36,093	84,23 ± 32,072	86,33 ± 29,542
Боль (BP)	68,360 ± 21,744	76,581 ± 26,882	82,024 ± 21,702
Общее состояние здоровья (GH)	56,545 ± 15,153	62,081 ± 21,757	64,359 ± 18,751
Жизнеспособность (VT)	59,893 ± 18,018	63,896 ± 19,830	62,265 ± 16,128
Социальное функционирование (SF)	71,365 ± 21,461	84,797 ± 18,907	79,449 ± 21,602
Роль эмоционального функционирования (RE)	75,382 ± 37,890	84,234 ± 34,251	84,763 ± 28,216
Психическое здоровье (MH)	64,429 ± 15,603	68,703 ± 20,085	67,837 ± 15,542
Физический компонент здоровья (PcH)	70,446 ± 16,731	77,938 ± 17,688	80,516 ± 14,869
Психический компонент здоровья (McH)	67,807 ± 16,441	75,408 ± 18,051	73,588 ± 14,686

села Курчум. Среди населения Абайского района выявлены наиболее низкие значения различных параметров качества жизни по всем шкалам опросника SF-36. А у населения села Курчум - самые высокие значения показателей качества жизни, исключая такие шкалы, как «Жизнеспособность», «Социальное функционирование» и «Психическое здоровье», по этим данным опережает население Бородулихинского района.

Наиболее низкие показатели качества жизни населения в Абайском, Бородулихинском и Курчумском районах отмечались по шкалам «Общее состояние здоровья» (56,55; 62,08 и 64,36 соответственно) и «жизнеспособность» (59,89; 63,896 и 62,265 соответственно). Наиболее высокие показатели выявлены по шкалам «Физическое функционирование» (82,85; 88,85 и 89,37, соответственно).

По остальным шкалам опросника SF-36 показатели качества жизни находились на среднем уровне во всех районах, при этом для населения Абайского района практически все вышеуказанные значения имели статистически значимые различия в сравнении с контрольным Курчумским районом, что указывает на негативное влияние длительного радиационного воздействия на качество жизни населения.

На рисунке 1 представлено графическое сопоставление средних значений по всем шкалам опросника SF-36 между Абайским районом и селом Курчум. Сравнение средних значений показало статистически значимые различия между показателями Абайского и контрольного Курчумского районов по всем шкалам, исключая «Жизнеспособность» ( $t=2,256$ ;  $p=0,25$ ) и «Психическое здоровье» ( $t=2,541$ ;  $p=0,11$ ).

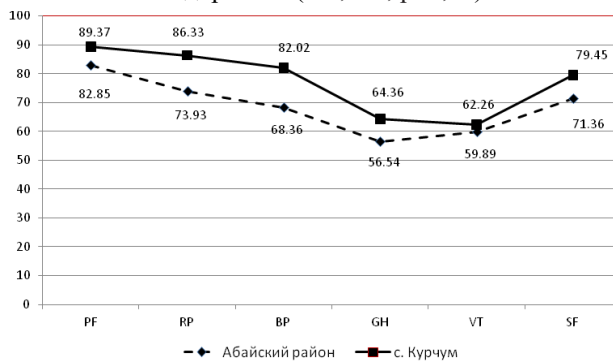


Рис. 1. Оценка качества жизни жителей Абайского района и села Курчум

Сравнительная оценка состояний в Бородулихинском районе и селе Курчум выявила отсутствие статистически значимых различий по всем шкалам, исключая «Социальное функционирование» ( $t=2,834$ ;  $p=0,05$ ) (рис. 2).

Анализ результатов оценки качества жизни населения, проживающего на радиоэкологически неблагоприятных территориях, позволяет судить о его статистически значимом снижении в Абайском районе, где дозы облучения респондентов или их родителей были

максимальными, в сравнении не только с контрольным Курчумским районом, но и с Бородулихинским, где дозы облучения населения были в 2-3 раза ниже.

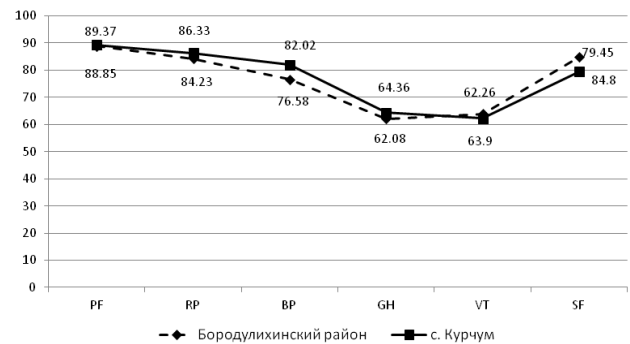


Рис. 2. Оценка качества жизни жителей Бородулихинского района и села Курчум

Как известно, вопрос оценки качества жизни населения является сложным интегративным процессом, который основан на результатах как внутренней оценки физического и психологического здоровья (физическая активность, ролевая активность, связанная со здоровьем, эмоциональное состояние, наличие болевого синдрома, социальное функционирование, психическое здоровье), так и анализа влияния социально-экономических, медико-демографических условий жизни популяции, влияния факторов внешней среды, в том числе экологических [4, 15].

Учитывая, что демографические, социальные и экономические факторы (процессы смертности, рождаемости, заболеваемости, система здравоохранения, образования, транспортные коммуникации, снабжение питьевой водой, трудовая занятость, сельскохозяйственный характер труда для основной массы жителей) в исследуемых районах не выявили существенных различий [6, 13, 39], разногласия по оценке качества жизни в районах с максимальными дозами облучения следует объяснить психологическим напряжением, доминирующим среди населения этих районов.

Несмотря на наличие достаточно большого числа научных публикаций о радиационной ситуации на территориях, прилегающих к бывшему полигону, свидетельствующих о том, что содержание радиоактивных элементов в объектах окружающей среды в настоящее время значительно ниже предельно допустимых национальных нормативных величин [25, 37], в средствах массовой информации по сей день распространяются сведения о высокой опасности проживания в изучаемых регионах ВКО, что дает повод проживающим на декретированных территориях лицам любые спонтанно возникшие заболевания связывать с радиационным воздействием. Недостаточная грамотность в вопросах радиационной безопасности характерна не только для населения, но и медицинских работников, педагогов и административных сотрудников [24, 38, 39].

Психологический статус людей, длительное время проживающих на территории радиоактивного загрязнения, отличается специфичностью, обусловленной хроническим психологическим стрессом и повышенной эмоциональной сенсibilизацией, неприятием радиационного риска, деформацией общественного сознания и появлением депрессивно-пессимистического настроения [3, 32, 34].

Состояние психологической напряженности вследствие указанных причин, безусловно приводит к снижению оценки качества жизни, связанного со здоровьем [22], подтверждением чего служат результаты изучения показателей распространенности заболеваний на изучаемых территориях: многочисленные исследования свидетельствуют о повышении рисков заболеваемости психическими расстройствами, депрессией, эндокринными заболеваниями, болезнями системы кровообращения, связанными с расстройством регуляторных систем при длительном стрессовом воздействии [2, 17, 33, 45].

Сравнение результатов оценки качества жизни лиц, подвергшихся радиационному воздействию и данных современной литературы является весьма затруднительным вследствие малочисленности проведенных в этом направлении исследований. Когортное исследование, проведенное среди 1407 жителей Тайваня, экспонированных малыми дозами радиации вследствие длительного проживания в зданиях, для постройки которых использовалась арматура с высоким содержанием радиоактивного кобальта, показало значительно более низкие показатели качества жизни в области физических, психологических, социальных сфер в сравнении с таковыми у неэкспонированных лиц. Эти данные наблюдались во всех возрастных группах с наибольшим снижением показателей, характеризующих качество жизни у лиц моложе 25 лет, а также у женщин. Медицинское обследование этих лиц каких-либо достоверных различий в показателях здоровья в сравнении с контролем не обнаружило [44]. Эти данные подтверждают тот факт, что длительное стрессовое воздействие, связанное с негативным восприятием радиации, может сказаться на оценке качества жизни респондентами.

**Выводы:** 1. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о статистически значимом снижении оценки качества жизни среди жителей, длительное время проживающих на радиационно-загрязненных территориях Восточно-Казахстанской области с максимальными дозами облучения.

2. Для минимизации стрессового воздействия радиационного фактора необходимо внедрение эффективных методов психологической защиты населения от неадекватной психотравмирующей информации, основанной на объективных данных о влиянии техногенных, в том числе радиационных факторов, на риск развития и течение социально-значимых заболеваний.

3. Данные, полученные в результате проведенно-

го исследования диктуют необходимость проведения дальнейших исследований по выявлению дополнительных факторов риска, воздействующих на качество жизни проживающих на экологически неблагоприятных территориях и определению социально-экономических условий проживания, психологических и демографических детерминант.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Апсаликов К.Н., Белихина Т.И., Турсунгожинова Г.С., Булеуханова Р.Т. Формирование индивидуального информационного фонда у лиц, проживающих на территории бывшего Семипалатинского полигона. Международная научно-практическая конференция «Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения». Северск-Томск: 2010. С. 11-13.
2. Ашимова Б.С., Апсаликов Б.А., Нуртанова А.М., Белихина Т.И., Серикканкызы Ш., Жоламбаева З.С. Динамика показателей заболеваемости лиц, подвергавшихся радиационному воздействию в результате деятельности Семипалатинского Ядерного Полигона (за период 2006-2012 гг.) Вестник КазНМУ. №3(1).2014. С. 30-34.
3. Жунусов Е.Т., Пивина Л.М., Семенова Ю.М., Белихина Т.И., Манатова А.М., Дюсупов А.А. Риск развития нарушений неспецифической резистентности при длительном воздействии малых доз радиации. Наука и здравоохранение. 2017. №5. С.136-147.
4. Козлова Н.И. Формирование условий длительного проживания населения на радиоактивно загрязненных территориях (на примере Курганской области). Известия Уральского государственного экономического университета. 2007. № 1 (18). С.231-236
5. Манатова А.М., Семенова Ю.М., Пивина Л.М., Белихина Т.И., Дюсупов А.А., Рахимжанова А.А. Оценка психологического статуса лиц, проживающих в условиях радиационного воздействия: систематический обзор. Наука и здравоохранение. 2017. № 5. С. 124-136
6. Программа развития территории Восточно-Казахстанской области на 2016-2020 годы. Усть-Каменогорск. 2017. 201 с.
7. Рудницкий В.А. Основные экологические факторы и психическое здоровье. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2008. № 1(48). С. 128- 131.
8. Рудницкий В.А. О совершенствовании системы реабилитационных мероприятий для пострадавших от малых доз радиации. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2009. № 1(52). С. 131-132.
9. Турсунгожинова Г.С., Джумажанова Г.К. К проблеме социально-психологической напряженности населения, проживающего на радиоактивно-загрязненных территориях. Вестник КазНУ. 2011. №3 (38). С. 16-19
10. Barcaccia В "Quality Of Life: Everyone Wants It, But What Is It?". Forbes/ Education. 2016 May 10.
11. Bauer S., Gusev B., Belikhina T., Moldagaliev T., Apsalikov K. The Legacies of Soviet Nuclear Testing in Kazakhstan: Fallout, Public Health and Societal Issues. In D. Oughton & S. O. Hansson (Eds.), Social and Ethical Aspects of Radiation Risk Management. Elsevier Science. 2013: 239-258.
12. Brook JR, Setton EM, Seed E, Shooshtari M, Doiron D. The Canadian Urban Environmental Health Research Consortium – a protocol for building a national environmental exposure data



- platform for integrated analyses of urban form and health. *BMC Public Health*. 2018 Jan 8;18(1):114.
13. Catherine A, Tatibekov B. "Characteristics of Migration in Kazakhstan." *Europe-Asia Studies: Society, Polity, Culture*. 2006; 1(53): 101–7.
  14. Chernyavskaya J. "Radiation in the Furnace." *Megapolis*. 2010. December 27. [http://www.megapolis.kz/art/Radiatsiyu\\_-\\_v\\_topku](http://www.megapolis.kz/art/Radiatsiyu_-_v_topku) (accessed June 5, 2014; URL now defunct).
  15. Chernobyl Forum. *Chernobyl's Legacy: Health, Environmental and Socio-Economic Impacts and Recommendations to the Governments of Belarus, the Russian Federation and Ukraine*. Vienna: IAEA. 2005.
  16. Grosche B, Lackland DT, Land CE, Simon SL, Apsalikov KN, Pivina LM, et al. Mortality from cardiovascular diseases in the Semipalatinsk historical cohort, 1960-1999, and its relationship to radiation exposure. *Radiat Res*. 2011; 176(5): 660-9.
  17. Grosche B. Semipalatinsk Test Site: introduction. *Radiat Environ Biophys*. 2006; 41:53–5.
  18. Grosche B, Land C, Bauer S, Pivina LM, Abylkassimova ZN, Gusev BI. Fallout from nuclear tests: health effects in Kazakhstan. *Radiat Environ Biophys*. 2002; 41:75–80.
  19. Gordeev K, Vasilenko I, Lebedev A, Bouville A, Luckyanov N, Simon SL et al. Fallout from nuclear tests: dosimetry in Kazakhstan. *Radiat Environ Biophys*. 2002; 41:61–7.
  20. Gusev BI, Abylkassimova ZN, Apsalikov KN. The Semipalatinsk Nuclear Test Site: a first assessment of the radiological situation and the test-related radiation doses in the surrounding territories. *Radiat Environ Biophys*. 1997; 36:201–4.
  21. Fernández-Cruz T, Martínez-Carballo E, Simal-Gándara J. Perspective on pre- and post-natal agro-food exposure to persistent organic pollutants and their effects on quality of life. *Environ Int*. 2017 Mar;100:79-101.
  22. Havenaar J, Rummyantzeva G, Kasyanenko A, Kaasjager K, Westermann A, Wim van den Brink et al. Health Effects of the Chernobyl Disaster: Illness or Illness Behavior? A Comparative General Health Survey in Two Former Soviet Regions. *Environmental Health Perspectives*. 1997; 105, Supplement 6: Radiation and Human Health: 1533-7.
  23. Hoffmann F.O., Apostonaei A.I., & Thomas B.A. (2002). A perspective on public concerns about exposure to fallout from the production and testing of nuclear weapons. *Health Physics*. 2002; 82:736–748.
  24. Jumazhanova G., Tursungozhinova G., Belenko O., Iskakova M., Amanova, A. Ecological Consciousness of a Personality Living in an Ecologically Unfavorable Region. *International Journal of Environmental and Science Education*. 2016;11(7):1469–1478.
  25. Zhumadilov Z., Gusev B., Takada J., Hoshi M., Kimura A., Hayakawa N. Thyroid Abnormality Trend Over Time in Northeastern Regions of Kazakhstan, Adjacent to the Semipalatinsk Nuclear Test Site: A Case Review of Pathological Findings for 7271 Patients. *Journal of Radiation Research*. 2000;41:35–44.
  26. Kakimov A, Yessimbekov Z, Kakimova Z, Bepeyeva A, Stuart M. Cs-137 in milk, vegetation, soil, and water near the former Soviet Union's Semipalatinsk Nuclear Test Site. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016 Mar;23(5):4931-7.
  27. Kawano N, Hirabayashi K., Motosuo M., Taooka Y., Hiraoka T., Apsalikov K. 2006. Human Suffering Effects of Nuclear Tests at Semipalatinsk, Kazakhstan: Established On the Basis of Questionnaire Surveys. *Journal of Radiation Research*. 2006;47:Suppl. A209–A217.
  28. Kratenko A. Put in a Coal. *Express K*. 2011 January 14. [http://www.express-k.kz/show\\_article.php?art\\_id=47758](http://www.express-k.kz/show_article.php?art_id=47758) (accessed June 5, 2014).
  29. Loganovsky K, Havenaar JM, Tintle NL. The mental health of clean-up workers 18 years after the Chernobyl accident. *Psychol Med*. 2008; 38(4):P.481-8.
  30. Loganovsky KN, Vasilenko ZL. Depression and ionizing radiation. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2013;(18):200-19.
  31. Lukashenko SN. Radioecological state of the Northern part of the territory of the Semipalatinsk Test Site. *Topical issues of Kazakhstan radioecology 2016*;1 (2). Printing House, Pavlodar.
  32. McHorney CA, Ware JE, Lu JFR, Sherbourne CD. The MOS 36-Item Short-Form Health Survey (SF-36®): III. Tests of data quality, scaling assumptions and reliability across diverse patient groups. *Med Care* 1994; 32(4):40-66.
  33. Miura I., Wada A., Itagaki S., Yabe H., Niwa S. Relationship between psychological distress and anxiety/ depression following the Great East Japan Earthquake in Fukushima Prefecture. *Jpn J Clin Psychiatry*. 2012;41:1137-42.
  34. Pivina LM, Semenova YuM, Rakhypbekov TK, Dyussupov AltA, Belikhina TI, Manatova AM. Anxiety and somatoform disorder in the descendants of people exposed to radiation in Kazakhstan. *European Journal of Public Health*. 2017;27, Supplement 3:311.
  35. Pivina LM, Semenova YuM, Rakhypbekov TK, Dyussupov AltA, Belikhina TI, Manatova AM. Prevalence of depression in the offspring of people exposed to radiation in East. *European Journal of Public Health*. 2017; 27, Supplement 3:388.
  36. Shigemura J, Tanigawa T, Saito I., Nomura S. Psychological distress in workers at the Fukushima nuclear power plants. *JAMA*. 2012;308:667-9.
  37. Simon SL, Baverstock KF, Lindholm C. A summary of evidence on radiation exposures received near to the Semipalatinsk nuclear weapons test site in Kazakhstan. *Health Phys*. 2003 Jun;84(6):718-25.
  38. Skvortsov V, Ivannikov A, Tikunov D, Stepanenko V, Borysheva N, Orlenko S. Considerations regarding the implementation of EPR dosimetry for the population in the vicinity of Semipalatinsk nuclear test site based on experience from other radiation accidents. *J Radiat Res*. 2006 Feb;47 Suppl A:A61-9.
  39. Stawkowski ME. "I am a radioactive mutant": Emergent biological subjectivities at Kazakhstan's Semipalatinsk Nuclear Test. *American Ethnologist*. 2016;43(1):144-157.
  40. Stawkowski ME. Radiophobia had to be reinvented. *Culture, Theory and Critique*. 2017; 58 (4):357-374.
  41. Stawkowski ME. Everyday Radioactive Goods? Economic Development at Semipalatinsk, Kazakhstan. *The Journal of Asian Studies*. 2017:1-14.
  42. United Nations General Assembly. International cooperation and coordination for the human and ecological rehabilitations and economic development of the Semipalatinsk region of Kazakhstan. Report of the Secretary General, 23 September 1998 A/53/424. New York.
  43. Ware JE, Snow KK, Kosinski M, Gandek B. *SF-36® Health Survey Manual and Interpretation Guide*. Boston, MA: New England Medical Center, The Health Institute. 1993.
  44. Ware JE, Sherbourne CD. The MOS 36-Item Short-Form Health Survey (SF-36®): I. conceptual framework and item selection. *Med Care* 1992; 30(6):473-83.
  45. Yen PN, Yang CC, Chang PW, Hwang JS, Lee HC, Kuo KL. Perception of quality of life of a cohort population years after relocation from previous low-dose radiation exposure in Co-60 contaminated buildings in Taiwan. *Int J Radiat Biol*. 2011 May;87(5):453-60.

## SUMMARY

### EVALUATION OF QUALITY OF LIFE IN THE OFFSPRINGS OF PEOPLE EXPOSED TO RADIATION DUE TO NUCLEAR WEAPONS TESTS IN KAZAKHSTAN

Manatova A., Semenova Yu., Pivina L., Belikhina T., Bulegenov T.

*Semey State Medical University, Kazakhstan*

The assessment of environmental factors influence on the population quality of life is one of the generally accepted methods of health status evaluation. The leading position in the structure of stress factors associated with nuclear weapons testing is attributed to inadequate informing of the population considering the consequences of radiation exposure, which leads to the development of anxiety and affects the assessment of the quality of life.

This paper presents the outcomes of the quality of life evaluation in the population exposed to radiation on the territories of Abai (n=233), Borodulikha (n=222), and Kurchum districts (n=245) of East Kazakhstan region. The tool for assessing the quality of life was SF-36 (Medical outcomes survey short form-36) questionnaire.

The analysis of the results revealed the statistically significant decrease in the quality of life of the population of Abay district where the average radiation doses of the respondents (or doses of their parents) were maximal in comparison with control group presented by the population of Kurchum district. In order to minimize the stressful impact of the radiation factor it is necessary to introduce the effective methods of psychological protection for the local population.

**Keywords:** nuclear weapons testing, quality of life, radiation factor, local population.

## РЕЗЮМЕ

### ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПОТОМКОВ ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ОБЛУЧЕНИЮ В РЕЗУЛЬТАТЕ ИСПЫТАНИЙ ЯДЕРНОГО ОРУЖИЯ В КАЗАХСТАНЕ

Манатова А.М., Семенова Ю.М., Пивина Л.М., Белихина Т.И., Булегенов Т.А.

*Государственный медицинский университет Семей, Республика Казахстан*

Оценка влияния факторов окружающей среды на качество жизни населения относится к общепринятым методам исследования состояния здоровья. Одно из лидирующих мест в структуре стрессовых факторов, связанных с испытаниями ядерного оружия, занимает неадекватное информирование населения о последствиях радиационного воздействия с форми-

рованием радиотревожности, что может отразиться на качестве жизни жителей. Проведено исследование по определению качества жизни экспонированного радиацией населения Абайского (n=233) и Бородулихинского (n=222) районов, в качестве контрольной группы исследовано население Курчумского района Восточно-Казахстанской области (n=245). В качестве основного инструмента для оценки качества жизни исследуемых лиц применен опросник по качеству жизни SF-36 (Medical outcomes survey short form-36).

Анализ результатов позволяет судить о статистически значимом снижении качества жизни в Абайском районе, где дозы облучения респондентов или их родителей были максимальными в сравнении с контрольным Курчумским районом. Для минимизации стрессового воздействия радиационного фактора необходимо внедрение эффективных методов психологической защиты населения.

## რეზიუმე

ბირთვული იარაღის გამოცდის შედეგად დასახლებულთა შთამომავლობის ცხოვრების ხარისხის შეფასება

ა. მანატოვა, იუ. სემიონოვა, ლ. პივინა,  
ტ. ბელიხინა, ტ. ბულეგენოვი

სემეის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ყაზახეთის რესპუბლიკა

ჯანმრთელობის მდგომარეობის შეფასების საყოველთაოდ მოღებულ კვლევის მეთოდებს შორის აღიარებულია გარემო ფაქტორების აღმნიშვნის ცხოვრების ხარისხზე გავლენის შეფასება. ერთ-ერთი წამყვანი ადგილი სტრესულ ფაქტორთა სტრუქტურაში, რომლებიც დაკავშირებულია ბირთვული იარაღის გამოცდასთან, უჭირავს მოსახლეობის არაადეკვატურ ინფორმირებას რადიაციული ზემოქმედების შედეგებზე რადიოშფოტის ჩამოყალიბებით, რაც უდავოა, რომ გავლენას ახდენს მოსახლეობის ცხოვრების ხარისხზე.

ჩატარდა ცხოვრების ხარისხის შეფასება რადიაციით ექსპონირებულ აბაისის (n=233) და ბორდულეხინის (n=222) რაიონის მაცხოვრებლებზე. საკონტროლო ჯგუფი წარმოდგენილი იყო აღმოსავლეთ ყაზახეთის კურჩუმის მოსახლეობით (n=245). მოსახლეობის ცხოვრების ხარისხის შეფასებისთვის გამოყენებული იყო კითხვარი SF-36.

შედეგების ანალიზმა აჩვენა ცხოვრების ხარისხის სატატისტიკურად მნიშვნელოვანი დაქვეითება აბაისის რაიონში, სადაც დასახლების მაქსიმალური დოზები იყო დაფიქსირებული კურჩუმის რაიონთან შედარებით. რადიაციული ფაქტორის სტრესული ზემოქმედების მინიმალური დოზის აუცილებელია მოსახლეობის ფსიქოლოგიური დაცვის ეფექტური მეთოდების დანერგვა.

## CO-ADMINISTRATION OF LIVE PROBIOTICS WITH CHONDROPROTECTOR IN MANAGEMENT OF EXPERIMENTAL KNEE OSTEOARTHRITIS

<sup>1</sup>Korotkyi O., <sup>1</sup>Vovk A., <sup>2,3</sup>Kuryk O., <sup>1</sup>Dvorshchenko K., <sup>1</sup>Falalyeyeva T., <sup>1</sup>Ostapchenko L.

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv; <sup>2</sup>Scientific-Practical Center for Prophylactic and Clinical Medicine;

<sup>3</sup>A. Bogomolets National Medical University, Ukraine

Knee osteoarthritis (OA) treatment is challenging due to inefficacy and adverse effects of current medications [7,8]. The replacement of cartilaginous tissue on the connective tissue is the main negative factor of OA, which leads to the destruction of the joint [5]. The latter does not possess the physical and mechanical properties of cartilage tissue, reinforcing effect on constant loads of tangential surfaces of bones, which leads to the destruction of bearing tissues [27]. OA is characterized by progressive structural and metabolic changes in joint tissues, mainly cartilage degradation, subchondral bone sclerosis and inflammation of synovial membrane. OA management involves multimodal therapeutic intervention since no cure has been found to date [30]. OA management requires drugs that could slow down, stop or even avoid joint degradation. Many of the recommended interventions present only symptom-modifying effects and a few structure-modifying effects. Clinical recommendations in the treatment of pathology are primarily associated with inhibition of symptoms of the disease - pain and morning stiffness. The analgesics, such non-steroidal anti-inflammatory drugs, has side effects, including violations of the cardiovascular system and digestion [22]. The direct influence of intestinal flora on the anti-inflammatory processes of the organism, in particular, in the optimization of the cytokine profile [3], is shown, decreasing NF- $\kappa$ B translocation in chondrocytes, the effect of short and medium chain fatty acids [4]. Thus, it can be argued that the use of analgesics eliminating the symptoms gives a quick but temporary effect, adversely affecting the general inflammatory processes.

Natural medicines are often an attractive option for patients diagnosed with chronic conditions and debilitating musculoskeletal diseases *e.g.* OA or rheumatoid arthritis. The high rate of self-medication with natural products is due to lack of an available cure and serious adverse events associated with chronic use of pharmaceutical medications in particular non-steroidal anti-inflammatory drugs and high dose paracetamol [6]. Pharmaceuticals to treat pain may disrupt gastrointestinal (GIT) barrier integrity inducing GIT inflammation and a state of and hyper-permeability [36]. Chondroitin sulfate (CS) is a major component of the extracellular matrix (ECM) of many connective tissues, including cartilage, bone, skin, ligaments and tendons.

CS belong to symptomatic slow-acting drugs for the treatment of OA. Recommendations of the European League Against Rheumatism for the treatment of knee OA has listed oral CS as evidence 1A and strength of recom-

mendation, which represents the highest level for a therapeutic strategy [35]. CS is recommended as a therapeutic intervention in the multimodal approach of OA management [13,16,22]. Pharmaceutical description of HS effect may include acceleration of the cartilage tissue regeneration, improving of phosphorus and calcium and inhibits the degenerative processes of joints tissues. However, the many works is still debate its efficacy [11,21]. Recent studies showed as CS modified structure and function of intestinal microbiome during normal and stress condition [25] and modulated host immunity. CS disaccharides had a significant impact on a broad range of biological pathways under stressed condition, such as ABC transporters, two-component systems, and carbohydrate metabolism. These findings open new page in exploring CS as a bioactive nutraceutical, *i.e.* support action in probiotic therapy.

Probiotic treatment has been shown to promote bone metabolism, reduce pain and inflammatory responses of age-related musculoskeletal disorders, including OA [1,15]. *Lactobacillus casei* Shirota consumption could serve as a novel therapeutic option in the clinical management of knee OA, improving treatment outcome likely through reducing serum hs-CRP levels [23]. Our previous study showed more pronounced viability of the live multi strains and their prevention of bacterial translocation [18]. Synergetic effect of bacterial feeding on microbiome is still discussed and should be described better. Therefore, co-administration of live probiotics with chondroprotector hypothetically has significant potential to block remodeling of cartilage during stress factor. Evidence is mounting that the alimentary tract microbiome, in particular, influences both host metabolic potential and its innate and adaptive immune system. Inflammatory states characterize many bone and joint diseases of aging. This prompts the hypothesis that the gut microbiome could alter the inflammatory state of the individual and directly influence the development of these common and burdensome clinical problems [33,36].

So in this study, we compare an effect of chondroprotector CS and live probiotics therapy on tissue reparation in rats joints and combine therapy.

### **Material and methods.** *Ethical statement*

This investigation was carried out in strict accordance to recommendations of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [28]. A protocol was approved by the Committee on the Ethics of Animal Experiments of the Taras Shevchenko National University of Kyiv (Protocol number 3: 25/09/2017). The rats were kept in collective cages under controlled conditions of temperature ( $22\pm 3$



°C), light (12 h light/dark cycle) and relative humidity (60±5 %). Five animals were maintained in each polycarbonate cage for rats; the cages had galvanized steel covers and contained glass drinkers. The animals got standard lab nutrition (Rezon-1, Ukraine) and *ad libitum* water. A vet examined animals acclimatization during five days, then the rats was randomly divided into groups and labeled with numbers.

#### Experiment design

The study was carried out on Wistar male rats weighing 180-240 g., which were divided into 9 groups of 10 animals each. Animals of the 1<sup>st</sup> group were intact. In other cases, anesthetized rats got 0.05 ml of a 4% solution of monoiodoacetate (MIA) (Sigma, France) to the knee joint in the right posterior rat's knee (equal volume of saline were used as control) used to simulate degenerative-dystrophic changes in the knee joint [14]. Animals got intramuscular injection of Chondroprotector (Chondroitin Sulphate Sodium) in a therapeutic dose of 3 mg/kg for the next 28 days, from 2<sup>nd</sup> to 29<sup>th</sup> days of experiment (equal volume of saline were used as control). Rats got per oral solution of multiprobiotic "Symbiter" (Prolisok, Ukraine) in a dose of 140 mg/kg dissolved in water of a volume 0.25 ml/100 g (clear water were used in control). Posterior knee joints from rats was removed at 30<sup>th</sup> day after the injection (Fig. 1).

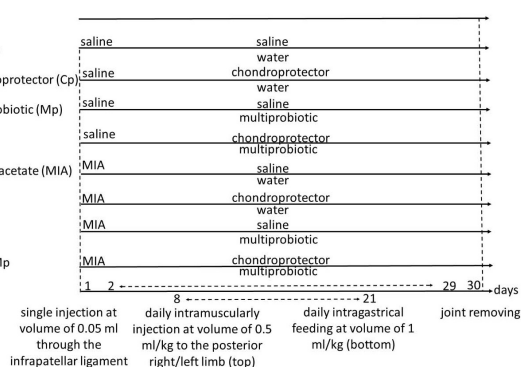


Fig. 1. Design of experiment

Material fixed in 10% neutral formalin and stored not more than 1 month. Then joints decalcified in rapid decalcificant (Kaltex, Italy). Samples prepared in histoprocessor of the carousel type STP-120. We use EC-350 station to fill the paraffin blocks, the rotary microtome of the HM-340E series to cut the paraffin blocks and the Robot-Stainer HMS-740 machine) to paint the histological preparations (all MICROM, Germany). The preparations were stained with hematoxylin-eosin. Images were made with Axioskop 40 microscope and Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss, Germany).

**Results and their discussion.** Histological findings of intact group proved classic description of knee joint in rats. Joint surface is solid. The layer structure of the hyaline cartilage of rats is preserved: the surface layer is represented by 5 lines of chondrocytes of oval-elongated shape, the cells of transition zone are

rounded and arranged in isolated isogenic groups. Most cores have clear contours and bright colors. The deep layer has large hypertrophied chondrocytes. Immediately under articular cartilage, there is a subchondral bone tissue with numerous vessels of microcirculation (Fig. 2). As we expected, groups 2-5 have no significant differ-

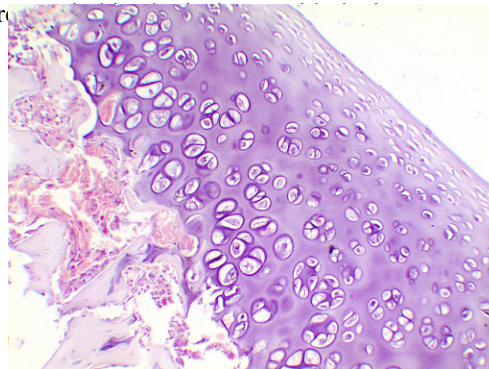


Fig. 2. Cartilage of the knee joint (intact group). H&E, x200

Administering of MIA causes severe disorganization in the structure of hyaline cartilage and violation of its histoarchitectonics. We observed gross lesions in the medial tibial plateau as it was described earlier [9]. The consequence of destruction of hyaline cartilage is the replacement of fibrous connective tissue. Number and size of the chondrocytes is lowered. Connective tissue completely replaces the surface of the cartilage which makes it impossible to restore the normal functioning of cartilage tissue by regenerating chondrocytes from deep layer cells (Fig. 3). Our dose of MIA induced chondral and subchondral alterations with prolonged inhibition of collagen and proteoglycan synthesis. ECM is thin, the distances are reduced between cells. Clinical findings observed decreasing of collagen type II and VI in the secretome of chondrocytes in patients with OA [19]. Disorders of secretome knots with high level of proinflammatory cytokines [31].

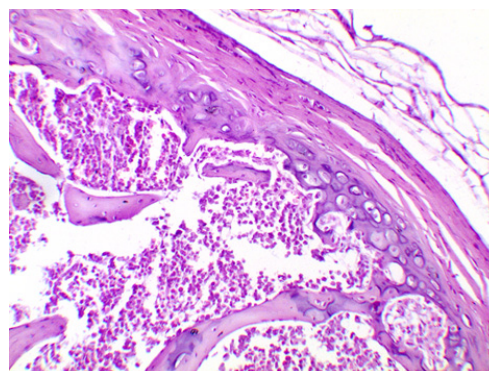


Fig. 3. Cartilage of the knee joint (MIA group). H&E, x200

After chondroprotector therapy with CS, fibrosis expresses minimal and equality of cartilage surface is maintaining. There is a tendency to preserve the morphological structure of cartilage, differentiation of chondrocyte zoning is partial saved. But still, his-



toarchitectonic is violated, we observe areas of chondrocytes absence and partial fibrosis of subchondral surface. Sectional loss of cellular elements in the surface and transitional layer of hyaline cartilage. Deep layer contains hypertrophied and vacuolated chondrocytes. Total amount of cells is reduced, especially in deep layer. Chondrocyte zoning is destructed (Fig. 4). A positive role of CS in cartilage tissue engineering has explained by increasing of *COL2A1* and *ACAN* gene expression [32]. Chondroprotector interacts with component of ECM [29]. Chondroprotector promoted the chondrogenetic redifferentiation of expanded chondrocytes by activating mesenchymal precursor cells pathway *in vitro*, but this data should validated *in vivo*.

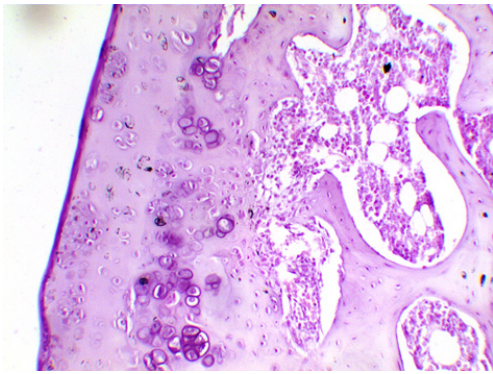


Fig. 4. Cartilage of the knee joint (Chondroprotector group). H&E, x200

Intestinal microflora are important in the regulation of immune systems. It has beneficial effects on wide variety of pathologies. Recent studies suggested probiotic involvements in immunomodulating processes. It is accompanied by increasing of immunomodulatory cytokines (interleukin(IL)-10 and tumor necrosis factor TGF- $\beta$ ) and CD4+ T cells [12]. Comparing Chondroprotector group and group with multi probiotic feeding, the second one does not solve the problem of maintaining the uniformity of the joint surface. It is unequal, post necrotic defects appears. In addition, cartilage tissue substitutes on fibrotic, but it cover less area comparing to MIA group. The chondrocytes of deep layer are present; it is saved the possibility of tissue regeneration (Fig. 5).

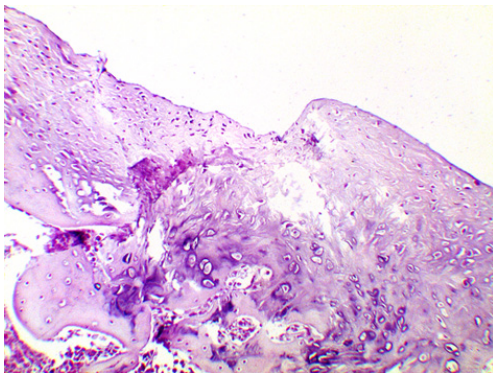


Fig. 5. Cartilage of the knee joint (multiprobiotic group). H&E x200

Co-administration of probiotic and CS showed the most remarkable changes (Fig. 6). The fibrosis is not observed in histological cuts of knee cartilage. The total amount of chondrocytes is approached to norm, chondrocytes of deep layer are not hypertrophy. The areas of cells absence are much smaller and singles. The surface is straight, there are no post necrotic changes and fibrosis elements. Negative changes are limited with infraction of cell zoning and some loss of their amount. In this case, combined therapy showed summary of effectiveness by both drugs.

OA is common joint disorder. Huge amount of available data in this area has discussed the underlying mechanisms and precise causes. Despite OA is classically described as noninflammatory pathology with cartilage and bone remodeling, resent publication in the field have showed development of inflammation at all stages of OA. Chondrocytes produced cytokines, chemokines and other inflammatory mediators which well detectable in synovial fluid. Moreover, PCR analysis have detected bacterial DNA, proving that bacterial products are present in the joint during disease progression. Different animal models have showed similar increasing of IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-12, IL-17, IFN- $\delta$ , TNF- $\alpha$  and COX-2. Therapeutic strategy included oral administration of *Lactobacllus casei* and *Lactobacillus acidophilus* (a probiotic) alone or together with type II collagen (CII) and glucosamine (GS) (potential prebiotic).

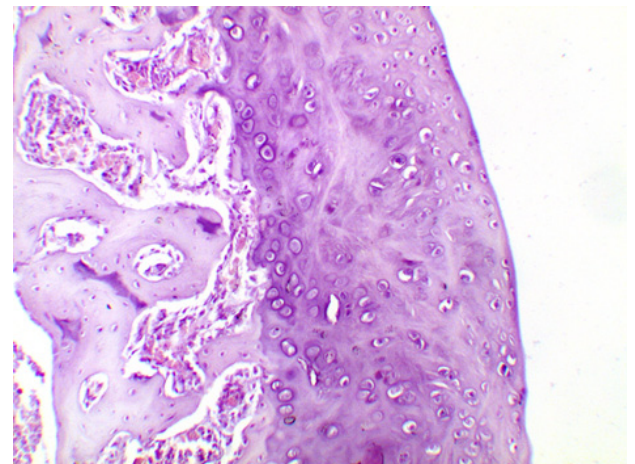


Fig. 6. Cartilage of the knee joint (group of co-administration). H&E, x200

Protection provided by *L. casei* and *L. acidophilus* was more effective than indomethacin using under the same conditions [2]. Co-administration of *L. casei* showed synergistic action with CII and GS, involving influence on pain reducing, cartilage destruction and lymphocyte infiltration. It also reduced expression of numerous pro-inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases with upregulation of anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-4. GS and CII administered alone or together did not effectively suppress cartilage dystrophy but showed anti-inflammatory activity noted to cytokine profile. A

randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial with 573 patients suggested that daily consumption of *L. casei* for 6 months exhibited beneficial effects in patients with knee OA [23]. Our previous findings and results of other works submitted that combined multi strained probiotics have more expression than mono strained culture in prophylaxis and treatment [17,34]. Human studies are awaited with interest.

**Conclusions.** Histological findings of degenerative lesions are similar to those observed in human OA, such as disorganization of chondrocytes, erosion and fibrillation of cartilage surface, and subchondral bone exposure. Fragmented bone was surrounded by numerous osteoclasts and was contained within focally extensive areas of fibrosis that replaced adjacent bone trabeculae and marrow elements. Separate therapy with chondroprotector and probiotics did not significantly improve histopathological state of joint condition but their combination showed progressive improvement. The amount of papers about the role of probiotic in inflammatory treatment is growing permanently.

These results suggest that combination of chondroprotector and live probiotics have some positive therapeutic effect on tissue reparation in rats joint with OA.

## REFERENSES

1. Abdollahi-Roodsaz S, Abramson SB, Scher JU. The metabolic role of the gut microbiota in health and rheumatic disease: mechanisms and interventions // *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(8):446-55.
2. Amdekar S, Singh V, Kumar A, Sharma P, Singh R. *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* regulate inflammatory pathway and improve antioxidant status in collagen-induced arthritic rats // *J Interferon Cytokine Res*. 2013;33(1):1-8.
3. Anhe FF, Roy D, Pilon G, Dudonné S, Matamoros S, Vain TV, Garofalo C, Moine Q, Desjardins Y, Levy E, Marette A. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice // *Gut*. 2015;64(6):872-83.
4. Avenoso A, D'Ascola A, Scuruchi M, Mandraffino G, Calatroni A, Saitta A, Campo S, Campo GM. The proteoglycan biglycan mediates inflammatory response by activating TLR-4 in human chondrocytes: Inhibition by specific siRNA and high polymerized Hyaluronan // *Arch Biochem Biophys*. 2018;2:34-41.
5. Bay-Jensen AC, Byrjalsen I, Bihlet A, Musa K, Riis BJ, Christiansen C, Karsdal MA. Segregating OA patients with and without joint inflammation using two biomarkers of connective tissue inflammation // *Osteoarthritis Cartilage*. 2015;23:88-9.
6. Da Costa BR, Reichenbach S, Keller N, Nartey L, Wandel S, Jüni P, Trelle S. Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain in knee and hip osteoarthritis: a network meta-analysis // *Lancet*. 2017;390(10090):21-33.
7. Felson DT. Developments in the clinical understanding of osteoarthritis // *Arth Res Therapy*. 2009;11(1):203.
8. Goldring MB, Goldring SR. Osteoarthritis // *J Cell Phys*. 2007;213(3):626-34
9. Guzman RE, Evans MG, Bove S, Morenko B, Kilgore K. Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis // *Toxicologic pathology*. 2003;31(6):619-24.
10. Henrotin Y, Mathy M, Sanchez C, Lambert C. Chondroitin Sulfate in the Treatment of Osteoarthritis: From in Vitro Studies to Clinical Recommendations // *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2010;2(6):335-48.
11. Henrotin Y, Marty M, Mobasheri A. What is the current status of chondroitin sulfate and glucosamine for the treatment of knee osteoarthritis? // *Maturitas*. 2014;78(3):184-7.
12. Hernandez CJ, Guss JD, Luna M, Goldring SR. Links between the microbiome and bone // *J Bone Mineral Res*. 2016;31(9):1638-46.
13. Hochberg MC, Zhan M, Langenberg P. The rate of decline of joint space width in patients with osteoarthritis of the knee: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials of chondroitin sulfate // *Curr Med Res Opin*. 2008;24(11):3029-35.
14. Jacobs BY, Dunnigan K, Pires-Fernandes M, Allen KD. Unique spatiotemporal and dynamic gait compensations in the rat monoiodoacetate injection and medial meniscus transection models of knee osteoarthritis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2017;25(5):750-8.
15. Janssen AW, Kersten S. The role of the gut microbiota in metabolic health // *FASEB J*. 2015;29(8):3111-23.22
16. Kahan A, Uebelhart D, De Vathaire F, Delmas PD, Reginster JY. Long-term effects of chondroitins 4 and 6 sulfate on knee osteoarthritis: the study on osteoarthritis progression prevention, a two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial // *Arth Rheumatol*. 2009;60(2):524-33.
17. Kobylak N, Falalyeyeva T, Virchenko O, Mykhalchyshyn G, Bodnar P, Spivak M, Yankovsky D, Beregova T, Ostapchenko L. Comparative experimental investigation on the efficacy of mono- and multiprobiotic strains in non-alcoholic fatty liver disease prevention // *BMC Gastroenterol*. 2016;16(1):34.
18. Kobylak N, Falalyeyeva T, Beregova T, Spivak M. Probiotics for experimental obesity prevention: focus on strain dependence and viability of composition // *Endokrynologia Polska*. 2017;68(6):659-67.
19. Kozhemyakina E, Lassar AB, Zelzer E. A pathway to bone: signaling molecules and transcription factors involved in chondrocyte development and maturation // *Development*. 2015;142(5):817-31.
20. Kubo M, Ando K, Mimura T, Matsusue Y, Mori K. Chondroitin sulfate for the treatment of hip and knee osteoarthritis: current status and future trends // *Life Sci*. 2009;85(13-14):477-83.
21. Lee YH, Woo JH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Effect of glucosamine or chondroitin sulfate on the osteoarthritis progression: a meta-analysis // *Rheumatol Int*. 2010;30(3):357-63.
22. Lee T, Lu N, Felson DT, Choi HK, Dalal DS, Zhang Y, Dubreuil M. Use of NSAIDs Correlates with the Risk of Venous Thromboembolism in Knee OA Patients: A UK Population-based Case-control Study // *Arth Rheum*. 2015;67:1308-11.
23. Lei M, Guo C, Wang D, Zhang C, Hua L. The effect of probiotic *Lactobacillus casei* Shirota on knee osteoarthritis: a randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial // *Beneficial Microb*. 2017;8(5):697-703.
24. Li Y, Luo W, Deng Z., Lei G. Diet-Intestinal Microbiota Axis in Osteoarthritis: A Possible Role // *Mediators Inflamm*. 2016;3495173:1-4.
25. Liu F, Zhang N, Li Z, Wang X, Shi H, Xue C, Li RW, Tang Q. Chondroitin sulfate disaccharides modified the structure and function of the murine gut microbiome under healthy and stressed conditions // *Scientific Reports*. 2017;7(1):6783.



26. McAlindon TE, Bannuru R, Sullivan MC, Arden NK, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra SM, Hawker GA, Henrotin Y, Hunter DJ, Kawaguchi H, Kwoh K. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2014;22(3):363-88.
27. Muzzarelli RA, El Mehtedi M, Bottegoni C, Gigante A. Physical properties imparted by genipin to chitosan for tissue regeneration with human stem cells: A review // *Int J Biol Macromol*. 2016;93:1366-81.
28. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. 219 p.
29. Opoka-Winiarska V, Jurecka A, Emeryk A, Tylki-Szymanska A. Osteoimmunology in mucopolysaccharidoses type I, II, VI and VII. Immunological regulation of the osteoarticular system in the course of metabolic inflammation // *Osteoarthritis Cartilage*. 2013;21:1813-23.
30. Samuels J, Krasnokutsky S, Abramson B. Osteoarthritis: a tale of three tissues // *Bull NYU Hosp Joint Dis*. 2008;66(3):244-50.
31. Sanchez C, Bay-Jensen AC, Pap T, Dvir-Ginzberg M, Quasnicka H, Barrett-Jolley R, Mobasheri A, Henrotin Y. Chondrocyte secretome: a source of novel insights and exploratory biomarkers of osteoarthritis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2017;25(8):1199-209.
32. Shang Q, Shi J, Song G, Zhang M, Cai C, Hao J, Li G, Yu G. Structural modulation of gut microbiota by chondroitin sulfate and its oligosaccharide // *Int J Biological Macromolecules*. 2016;89:489-98.
33. Steves CJ, Bird S, Williams FM, Spector TD. The Microbiome and Musculoskeletal Conditions of Aging: A Review of Evidence for Impact and Potential Therapeutics // *J Bone Miner Res*. 2016;31(2):261-9.
34. Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts L, Beynen AC. Monostrein, multistrein and multispecies probiotics // *Int J Food Microbiol*. 2004;96:219-33.
35. Uebelhart D. Clinical review of chondroitin sulfate in osteoarthritis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16(3):19-21.
36. Vitetta L, Coulson S, Linnane AW, Butt H. The gastrointestinal microbiome and musculoskeletal diseases: a beneficial role for probiotics and prebiotics // *Pathogens*. 2013;2(4):606-26.

## SUMMARY

### CO-ADMINISTRATION OF LIVE PROBIOTICS WITH CHONDROPROTECTOR IN MANAGEMENT OF EXPERIMENTAL KNEE OSTEOARTHRITIS

<sup>1</sup>Korotkyi O., <sup>1</sup>Vovk A., <sup>2,3</sup>Kuryk O.,  
<sup>1</sup>Dvorshchenko K., <sup>1</sup>Falalyeyeva T., <sup>1</sup>Ostapchenko L.

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv; <sup>2</sup>Scientific-Practical Center for Prophylactic and Clinical Medicine; <sup>3</sup>A. Bogomolets National Medical University, Ukraine

The aim of the study was to study the therapeutic effect of the chondroprotector and live probiotic culture on the repair of cartilage tissue of the knee joint of rats during monoiodoacetate-induced osteoarthritis.

The study used 90 white male Wistar rats weighing

180-240 g, which were randomly diluted into nine groups of 10 animals each, with double control and taking into account the intact group. The animals of the therapeutic groups received the chondroprotector and the probiotic separately and alongside. Joint removing and sample preparation were carried out on the 30th day of the experiment.

Histological findings of cartilage tissue of the knee joint in positive control groups did not differ from intact. Experimental osteoarthritis caused significant changes in the histoarchitectonics of the cartilaginous tissue, dystrophy of the intercellular substance, fibrosis on the cartilage surface. A separate application of the chondroprotector and probiotic had a positive effect on the prevention of cartilage destruction. Their joint administration had the most significant effect, confirming the hypothesis of the summation of the effect of drugs.

Thus, the use of the chondroprotector enhances the positive effect of the probiotic microbiota in anti-inflammatory processes.

**Keywords:** anti-inflammatory therapy, combined action of drugs, remodulation of cartilage tissue.

## РЕЗЮМЕ

### КОМБІНІРОВАННЕ ПРИМІНЕННЯ ЖИВОЇ КУЛЬТУРИ ПРОБІОТИКІВ І ХОНДРОПРОТЕКТОРА В ЛЕЧЕННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРОЗА КОЛЕННОГО СУСТАВА

<sup>1</sup>Короткий А.Г., <sup>1</sup>Вовк А.А., <sup>2,3</sup>Курік Е.Г.,  
<sup>1</sup>Дворщенко Е.А., <sup>1</sup>Фалалеева Т.М., <sup>1</sup>Остапченко Л.І.

<sup>1</sup>Київський національний університет ім. Тараса Шевченка; <sup>2</sup>Научно-практичний центр профілактичної і клінічної медицини; <sup>3</sup>Національний медичний університет ім. А. Богомольця, Україна

Целью исследования было изучить терапевтическое влияние хондропротектора и живой культуры пробиотиков на репарацию хрящевой ткани коленного сустава крыс во время моноиодацетат-индуцированного остеоартроза.

В исследовании использовано 90 белых самцов крыс линии Вистар, весом 180-240 г, которые были разведены случайным образом на 9 групп по 10 животных, с двойным контролем и учетом интактной группы. В терапевтических группах животные получали хондропротектор и пробиотик отдельно и совместно. Отбор материалов для гистологического исследования проводился на 30-ый день эксперимента.

Гистологические снимки хрящевой ткани коленного сустава у положительных контрольных групп не отличался от интактной. Экспериментальный остеоартроз вызывал значительные изменения гистоархитектоники хрящевой ткани, дистрофию межклеточно-

го вещества, фиброз поверхности хряща. Отдельное применение хондропротектора и пробиотика оказывает положительное влияние на предотвращение деструкции хряща. Их совместное администрирование имеет наиболее значительный эффект подтверждая гипотезу суммации действия препаратов.

Таким образом, применение хондропротектора усиливает положительное влияние пробиотической микрофлоры при противовоспалительных процессах.

### რეზიუმე

ხონდროპროტექტორის და პრობიოტიკების ცოცხალი კულტურის გამოყენება მუხლის სახსრის ექსპერიმენტული ოსტეოართროზის მკურნალობაში

<sup>1</sup>ა. კორტკი, <sup>1</sup>ა. ვოკი, <sup>2,3</sup>ე. კურიკი, <sup>1</sup>ე. დვორშენკო, <sup>1</sup>ტ. ფალაქევა, <sup>1</sup>ლ. ოსტაპენკო

<sup>1</sup>კიევის ტარას შევჩენკოს სახ. ნაციონალური უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>პროფილაქტიკური და კლინიკური მედიცინის სამეცნიერო-პრაქტიკული ცენტრი; <sup>3</sup>ბოგომოლცის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, კიევი, უკრაინა

კვლევის მიზანი იყო ქონდროპროტექტორის და პრობიოტიკების ცოცხალი კულტურის თერაპიული გავლენის შესწავლა ვირთავების მუხლის სახსრის ხრტილოვანი ქსოვილის რეპა-

რაციაზე მონოოდაცვლებით ინდუცირებული ოსტეოართროზის დროს.

კვლევაში გამოყენებული იყო ვისტარის ხაზის 90 თეთრი ფერის მამრი ვირთავები, რომლებიც იწონიდნენ 180-240 გრ-ს განაწილებული იყვნენ შემთხვევითი წესით 9 ჯუფად, 10 ცხოველი ყოველ ჯგუფში, ორმაგი კონტროლით და ინტაქტური ჯგუფის გათვალისწინებით. თერაპევტულ ჯგუფებში ცხოველები ღებულობდნენ ქონდროპროტექტორს და პრობიოტიკს ცალ-ცალკე ან ერთად. ჰისტოლოგიური კვლევისთვის მასალის შერჩევა ტარდებოდა ექსპერიმენტის 30-ე დღეს. უარყოფითი საკონტროლო ჯგუფებში მუხლის სახსრის ხრტილოვანი ქსოვილის ჰისტოლოგიური სურათები არ განსხვავდებოდა ინტაქტურისგან. დადებითმა კონტროლმა უჩვენა ხრტილოვანი ქსოვილის გისტოარქიტექტონიკის მნიშვნელოვანი ცვლილებები, უჯრედთშორისი ნივთიერების დისტროფია, ხრტილის ზედაპირის ფიბროზი. ქონდროპროტექტორის და პრობიოტიკის ცალ-ცალკე გამოყენება ახდენს დადებით გავლენას ხრტილის რემოდულაციის აცილებაზე. მათ ერთობლივად ადმინისტრირებას აქვს ყველაზე უფრო მნიშვნელოვანი ეფექტი, რაც ადასტურებს ჰიპოტეზას პრეპარატების მოქმედების სუმაციის შესახებ.

ამგვარად, ქონდროპროტექტორის გამოყენება აძლიერებს პრობიოტიკული მიკრობიოტის დადებით გავლენას ანთებისსაწინააღმდეგო პროცესის დროს.

## THE INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH CARRAGEENAN SOLUTION CONSUMPTION

<sup>1</sup>Krynitska I., <sup>1</sup>Marushchak M., <sup>1</sup>Svan O., <sup>2</sup>Akimova V., <sup>1</sup>Mazur L., <sup>1</sup>Habor H.

<sup>1</sup>I. Horbachevsky Ternopil State Medical University; <sup>2</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

With changing lifestyle and dietary transition, there is an increase in intake of processed and packaged foods which tend to have a number of food additives. This has increased our consumption of these chemical substances. The Joint FAO/WHO Committee on Food Additives (JECFA) noted that food additives could serve a valuable technical function in food: to maintain the nutritional quality of food; to enhance keeping quality or stability, with resulting reductions in food wastage; to make food attractive to consumers (especially those marketed as low calorie); and to provide essential aids to processing [6, 10, 17, 23, 24].

One of such additives is carrageenan (CGN) - E407. CGN is a high weight-average molecular weight polysaccharide derived from seaweed, and consisting of repeating

disaccharide units of galactose and 3, 6-anhydrogalactose, both sulfated and non-sulfated, joined by alternating  $\alpha$ -(1,3) and  $\beta$ -(1,4) links. Carrageenan can exist in several different forms- kappa, iota, lambda, cations, ester sulfate [28].

Carrageenan has no nutritional value and is used in food manufacturing for its gelling, thickening, and emulsifying properties. It is added to dairy and meat products, in particular to produce low-calorie foods, such as puddings, yogurt, jellies and sauces. Webber et al. stressed that 70-80 % of commercially manufactured food in the world contain carrageenan [27]. Carrageenan is also used in the pharmaceutical, cosmetic, and textile industries [21].

Several studies have reported that carrageenan has antiproliferative activity on cancer cell lines in vitro, as



well as inhibitory activity on tumor growth in mice. In addition, they have anti-metastatic activity by blocking the interactions between cancer cells and the basement membrane, inhibit tumor cell proliferation, and tumor cell adhesion to various substrates, but the exact mechanisms of these actions are not yet completely understood [21]. On the other hand, there is an evidence of oncogenic transformation of cells under the influence of carrageenan, while positive correlation was found between the use of products with this additive in the diet and an increased risk of breast carcinoma [25]. Moreover, in experimental medicine, carrageenan often is used to model inflammatory processes [11,18].

These indications of potentially negative health effects of carrageenan prompt us to question about the safety of its widespread use. There is lack of definitive data on long-term outcomes of carrageenan consumption by either healthy adults or by persons with preexisting diseases.

This paper reports the effect of 0.5 % carrageenan solution consumption on the main indices of endogenous intoxication in blood serum of rats.

**Material and methods.** Experimental studies were conducted on 48 non-linear, male, white rats weighing 180-200 g, that were housed at  $25\pm 3^{\circ}\text{C}$  and humidity of  $55\pm 2\%$ , under a 12 h light and dark cycle. Water was available ad libitum.

The experimental animals had free access to 0.5% carrageenan solution (Sigma-Aldrich, USA) in drinking water. Control group of animals received pure water. Laboratory animals were divided into 4 groups. Group 1 (control) - intact animals, group 2 - animals had access to carrageenan solution for 7 days, group 3 - animals had access to carrageenan solution for 14 days and group 4 - animals had access to carrageenan solution for 30 days.

Animal euthanasia was carried out by cardiac puncture under deep anesthesia, according to international principles of European Convention for the protection of Vertebrate Animals (Strasburg, 1985) [8].

Syndrome of endogenous intoxication was evaluated using measurement of the middle mass molecules contents in blood serum according to the methodology of M.A. Andreychyn [1]. An acid-soluble fraction was isolated from the blood serum, which was obtained by adding 1.8 ml of the 10% solution of trichloroacetic acid to 0.2 ml of blood serum. The next centrifugation was carried out at 3000 rpm for 30 min. 0.5 ml of the isolated fraction was diluted with distilled water at a ratio of 1:10 and determined the optical density at a wavelength of 254 nm (the chain amino acids are determined,  $\text{MMM}_1$ ) and 280 nm (the aromatic amino acids are determined,  $\text{MMM}_2$ ) vs distilled water on a spectrophotometer SF-46. The results were expressed in conventional units (CU), which are numerically equal to the extinction indices.

All of the data were processed using the software package Statistica 6.1 for Windows. Intergroup comparisons were performed using Mann-Whitney-Wilcoxon U test. The median (Me) and interquartile range (IQR [Q25-

Q75]) were deduced. Differences with  $p\text{-value} < 0.05$  were considered as significant.

**Results and their discussion.** Endogenous intoxication syndrome is characterized by metabolic, morphological and functional disorders of various organs and systems and occurs in response to various factors of the external and internal environment, as a result of toxic substances accumulation in tissues and biological fluids [14]. In our days, the endogenous intoxication syndrome concept is widespread as a process within the syndrome of a systemic inflammatory response [3]. Concentration of middle molecular products of proteolysis, which are called middle mass molecules (MMM) in biological liquids is an important and objective indicator of toxicity within the body systems, independent of the causes and signs of the diseases and is thought to primarily reflect the extent of abnormal protein metabolism and correlate with main clinical and laboratory prognostic criteria for metabolic disorders [12].

The analysis of our results showed that in 1 week with 0.5 % carrageenan solution consumption the indices of endogenous intoxication in blood serum of rats didn't change significantly ( $p > 0,05$ ) vs control group. In 2 weeks with 0.5 % carrageenan solution consumption we have found the increasing of  $\text{MMM}_1$  contents by 23.0 % and the increasing of  $\text{MMM}_2$  contents by 22.5 % vs control group. The maximum changes of endogenous intoxication indices we have observed in 1 month with 0.5 % carrageenan solution consumption. Herewith contents of  $\text{MMM}_1$  in blood serum of rats increased by 73.9 % ( $p < 0,001$ ),  $\text{MMM}_2$  contents – 55.0 % ( $p < 0,001$ ) vs control group.

Thus, we have found that even the minimal intake of carrageenan, triggers the mechanisms of endogenous intoxication in rats. Metabolic products, which are usually removed from the body can cause intoxication if over-produced, if their elimination from the blood circulation is insufficiently effective, or if both of these processes occur simultaneously. We suggest that 1 month of 0.5 % carrageenan solution consumption causes overproduction of toxic metabolites and disrupted elimination process condition resulting in endogenous intoxication syndrome development.

There are data that the activation of lipid peroxidation processes and overproduction of reactive oxygen species (ROS) are an important mechanisms in the development of endogenous intoxication. Excessive lipoperoxidation is accompanied by the accumulation of peroxide oxidation products and the depletion of antioxidant system reserves, which causes hyperfermentemia and accumulation of toxic substances [5, 13]. The inflammatory cascades activated by carrageenan exposure are mediated by ROS and by activation of an innate immune pathway involving the Toll-like receptor-4 and bcl-10 [2, 4].

Changes in the intestinal wall in case of the carrageenan action on the mucous membrane of the intestine lead to the damage of the mucous membrane and violation of the barrier, motor, and nutritional functions of the intestine [20]. The permeability of the epithelial intestinal barrier

Table. The indices of endogenous intoxication syndrome in blood serum of rats with 0.5 % carrageenan solution consumption, Me [Q25-Q75]

Group of animals	Control group (n=12)	1st experimental group (1 week of carrageenan consumption) (n=12)	2nd experimental group (2 weeks of carrageenan consumption) (n=12)	3rd experimental group (1 month of carrageenan consumption) (n=12)
Index				
MMM <sub>1</sub> , CU	0.334 [0.311;0.360]	0.347 [0.336;0.359] p <sub>1</sub> >0,05	0.411 [0.391;0.428] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01	0.581 [0.569;0.597] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001
MMM <sub>2</sub> , CU	0.120 [0.105;0.139]	0.128 [0.104;0.141] p <sub>1</sub> >0,05	0.147 [0.131;0.158] p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> >0,05	0.186 [0.174;0.197] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,01

note: p<sub>1</sub> - significant difference compared to the control group;  
p<sub>2</sub> - significant difference between the 1st and 2nd experimental groups;  
p<sub>3</sub> - significant difference between the 2nd and 3rd experimental groups

is affected by a number of factors: acute endotoxemia, oxidative stress, cellular hypoxia, suppression of metabolism, proinflammatory cytokines, bacterial toxins, parenteral nutrition, proteolytic enzymes, massive hemorrhage, etc. [26]. The loss of the barrier function by the intestine causes the translocation of bacteria and their endotoxins both into the abdominal cavity and into the general blood flow, followed by the development of endotoxemia [15]. The main mechanisms which may be involved into bacterial translocation are disruption of immune response, changes of the bacterial flora in the small intestine, and increased intestinal permeability. Moreover, intestinal mucosa is damaged by oxidative stress, which also increases its permeability. Endotoxemia may be caused either directly by the movement of bacteria through the intestinal mucosa or indirectly through the cytokine cascade stimulates vascular endothelial inducible nitric oxide synthase, which increases the production of NO [16]. Violation of the enterohepatic barrier as one of the pathological manifestations of enteric insufficiency leads to the emergence of an additional source of endotoxemia, which closes the «vicious circle» and causes the occurrence of irreversible lesions of various organs and systems [9].

On the other hand although it has been reported that CGN administered in drinking water of rats can be absorbed from the intestinal tract in animal studies, the amount was considered to be extremely low, and there is no evidence of absorption in humans [19]. Nicklin S. and Miller K. administered 0.5% CGN solution in drinking water to rats for 90 days and detected the presence of small amounts of stained material within cells of the intestinal villi, lamina propria, and basement membrane of lymphatics, using Alcian blue stain for CGN. But the amounts of CGN were not quantitated and no difference in staining was seen between the three forms of CGN. In addition, there were no histopathological findings or abnormal effects on the GI tract and no alteration in the immune response to orally administered antigen in treated animals [22].

The effect of CGN in diet on intestinal permeability to macromolecular markers, polyethylene glycol (PEG) 900 and 4000, was evaluated in female rats. Following 4 weeks of feeding 20% CGN (an excessively high dose), rats showed increased cecal and intestine weights, increased intestinal length, and decreased excretion of PEG-900, compared to rats on fiber-free diets. The excretion of PEG-4000 was not affected by CGN administration. It appears that CGN at an excessively high dose did not increase the intestinal permeability to either marker and actually decreased the permeability to the smaller marker [7].

**Conclusion.** Our results indicate that even the minimal intake of carrageenan, triggers the mechanisms of endogenous intoxication in rats, starting in 2 weeks of consumption. 1-month consumption of carrageenan with drinking water in concentration of 0.5% is associated with significant increase in endogenous intoxication, manifested by increased contents of middle mass molecules (both the chain amino acids and the aromatic amino acids) in blood serum. From these facts, one may conclude that although carrageenan has been used widely in food as an emulsifier, a stabilizer, and a thickener for more than 50 years, some questions of its safety are still opened.

## REFERENCES

1. Andreychyn M.A., Bekh M.A., Demianenko V.V. Methods of study of endogenous intoxication of an organism: methodical recommendations. Kyiv, 1998; 10–13.
2. Bhattacharyya S., Gill R., Chen M.L., Zhang F., Linhardt R.J., Dudeja P.K. Toll-like receptor 4 mediates induction of the bcl10-NFκB-interleukin-8 inflammatory pathway by carrageenan in human intestinal epithelial cells // J Biol Chem. 2008; 283:10550-8.
3. Bone R.S. Sepsis, sepsis syndrome and the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) // JAMA. 1995; 2 (273):155–6.
4. Borthakur A., Bhattacharyya S., Dudeja P.K., Tobacman J.K. Carrageenan induces interleukin-8 production through distinct BCL-10 pathway in normal human intestinal epithelial cells //

Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2007; 292:829-38.

5. Demikhova N., Sukhonos V., Vynnychenko L., Psareva V., Prikhodko O. Activation of lipid peroxidation in patients with renal hypertension // Georgian Med News. 2013; (215):51-5.

6. El Khoury D., Goff H.D., Berengut S., Kubant R., Anderson G.H. Effect of sodium alginate addition to chocolate milk on glycemia, insulin, appetite and food intake in healthy adult men // Eur J Clin Nutr. 2014; 68:613-8.

7. Elsenhans B., Caspary W.F. Differential changes in the urinary excretion of two orally administered polyethylene glycol markers (PEG 900 and PEG 4000) in rats after feeding various carbohydrate gelling agents // J Nutr. 1989; 119:380-7.

8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe Strasbourg 1986; 123: 52.

9. Guo Z.Z., Wang P., Yi Z.H., Huang Z.Y., Tang C.W. The cross-talk between gut inflammation and gastrointestinal disorders during acute pancreatitis. Curr Pharm Des. 2014; 20:1051-62.

10. Jain A., Mathur P. Evaluating Hazards Posed by Additives in Food: A Review of Studies Adopting a Risk Assessment Approach Current Research in Nutrition and Food Science. 2015; 3(3):243-255.

11. Kim K.S., Kim M.H., Yeom M., Choi H.M., Yang H.I., Yoo M.C. Arthritic disease is more severe in older rats in a kaolin/carrageenan-induced arthritis model // Rheumatol Int. 2012; 32:3875-9.

12. Kopytova T.V., Dmitriyeva O.N., Khimkina L.N., Panteleyeva G.A. Oxidative modification of proteins and oligopeptides in patients with chronic dermatoses with the syndrome of endogenous intoxication // Fundamental Investigations. 2009; 6:25-29.

13. Korda M.M. Status of the antioxidant, monooxygenase and humoral immune system of the body in d-galactosamine hepatitis // Ukr Biokhim Zh. 1996;68(1):72-5.

14. Koryakina Ye.V., Belova S.V. Molecules of medium mass as an integral measure of metabolic disorders (literature review) // Clin. Lab. Diagn. 2004. 2, 3-8.

15. Krivoruchko IA, Zhukov VI, Ivanova SE, Povelichenko MS, Moiseenko AS. The condition of the liver monooxygenase system in rats with ischemia/reperfusion of the small intestine // Kharkov Surg Sch 2012;6:36-9.

16. Krynytska I.Y., Marushchak M.I., Klishch I.M., Birchenko I.V. Molecular mechanisms of hepatopulmonary syndrome // Fiziol Zh. 2017; 63:90-102.

17. Magnusona B., Munrob I., Abbotc P., Baldwinb N., Lopez-Garciad R., Lyb K., McGirrb L., Robertsb A., Socolovsky S. Review of the regulation and safety assessment of food substances in various countries and jurisdictions // Food Additives & Contaminants: Part A. 2013; 30(7):1147-20.

18. Marushchak M., Lisnianska N., Krynytska I., Chornomydz I. The Mechanisms of apoptosis initiation in rats with chronic enterocolitis combined with streptozotocin-induced diabetes // Georgian Medical News. 2017; 270:125-130.

19. McKim J.M. Food additive carrageenan: Part I: A critical review of carrageenan in vitro studies, potential pitfalls, and implications for human health and safety // Crit Rev Toxicol. 2014; 1-33.

20. Moyana T.N., Lalonde M.B.A. Carrageenan-induced intestinal injury in the Rat – A model for inflammatory bowel disease // Ann Clin Lab Sci. 2012; 20:420-6.

21. Necas J, Bartosikova L. Carrageenan: A review // Vet Med. 2013; 58:187-205.

22. Nicklin S, Miller K. Effect of orally administered food-grade carrageenans on antibody-mediated and cell-mediated immunity in the inbred rat. Food Chem Toxicol. 1984; 22:615-21.

23. Patel N.M., Joshi K.J., Kumar P., Purani S.K., Kartha G.P.

Knowledge, attitude and practice (KAP) regarding carbonated drinks among medical students of C.U. Shah. Medical college and hospital of Surendranagar district. Int J Med Sci Public Health. 2017; 6:38-41.

24. Rutska A.V. The influence of monosodium glutamate on reactive oxygen species in rats Ukr Biochem J. 2018; 90(3): 132.

25. Tobacman J.K., Wallace R.B., Zimmerman M.B. Consumption of carrageenan and other water-soluble polymers used as food additives and incidence of mammary carcinoma. Med Hypotheses. 2001; 56:589-98.

26. Tretyakov E.V., Varganov E.V., Nifontova E.E. A modern view of intestinal bacterial translocation as the main cause of purulent-septic complications in destructive pancreatitis. Success Mod Natural Sci. 2013; 9:78-87.

27. Webber V., de Carvalho S.M., Ogliari P.J., Hayashi L., Barreto P.L. Optimization of extraction of carrageenan. Ciênc Tecnol Aliment. 2012; 32:812-8.

28. Weiner M.L. Parameters and pitfalls to consider in the conduct of food additive research, Carrageenan as a case study. Food and Chemical Toxicology. 2016; 87:31-44.

## SUMMARY

### THE INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH CARRAGEENAN SOLUTION CONSUMPTION

<sup>1</sup>Krynytska I., <sup>1</sup>Marushchak M., <sup>1</sup>Svan O.,  
<sup>2</sup>Akimova V., <sup>1</sup>Mazur L., <sup>1</sup>Habor H.

<sup>1</sup>I. Horbachevsky Ternopil State Medical University;  
<sup>2</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University,  
Ukraine

With changing lifestyle and dietary transition, there is an increase in intake of processed and packaged foods which tend to have a number of food additives. This has increased our consumption of these chemical substances. One of such additives is carrageenan (CGN) - E407. This paper reports the effect of 0.5 % carrageenan solution consumption on the main indices of endogenous intoxication in rats. Experimental studies were conducted on 48 non-linear, male, white rats weighing 180-200 g. The experimental animals had free access to 0.5% carrageenan solution (Sigma-Aldrich, USA) in drinking water. Control group of animals received pure water. Syndrome of endogenous intoxication was evaluated using measurement of the middle mass molecules contents in blood serum. We have found that even the minimal intake of carrageenan, triggers the mechanisms of endogenous intoxication in rats, starting in 2 weeks of consumption. 1 month consumption of carrageenan with drinking water in concentration of 0.5% is associated with significant increase in endogenous intoxication, manifested by increased contents of middle mass molecules (both the chain amino acids and the aromatic amino acids) in blood serum. From these facts, one may conclude that although carrageenan has been used widely in food as an emulsifier, a stabilizer, and a thickener for more than 50 years, some questions of its safety are still opened.

**Keywords:** carrageenan, endogenous intoxication, rats.

## РЕЗЮМЕ

### ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КАРРАГИНАНА

<sup>1</sup>Криницкая И.Я., <sup>1</sup>Марущак М.И., <sup>1</sup>Сван О.Б.,  
<sup>2</sup>Акимова В.М., <sup>1</sup>Мазур Л.П., <sup>1</sup>Габор Г.Г.

*<sup>1</sup>Государственное высшее учебное заведение Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского; <sup>2</sup>Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого, Украина*

С изменением образа жизни и диетического подхода к пище наблюдается увеличение потребления переработанных и упакованных продуктов, в которых содержится ряд пищевых добавок, что увеличивает поступление в организм химических веществ. Одной из таких добавок является каррагинан (CGN) - E407.

Целью исследования явилось определение влияния 0,5% раствора каррагинана на показатели эндогенной интоксикации у крыс.

Экспериментальные исследования проводились на 48 нелинейных, белых крысах-самцах, весом 180-200 г. У экспериментальных животных был свободный доступ к 0,5% раствору каррагинана (Sigma-Aldrich, США) в питьевой воде. Контрольная группа животных получала чистую воду. Синдром эндогенной интоксикации оценивали посредством измерения содержания молекул средней массы в сыворотке крови. Обнаружено, что даже минимальное потребление каррагинана запускает механизмы эндогенной интоксикации у крыс начиная с двух недель потребления. Одномесячное потребление каррагинана с питьевой водой в концентрации 0,5% вызвало значительное увеличение эндогенной интоксикации, что проявилось в росте содержания молекул средней массы как цепных, так и ароматических аминокислот в сыворотке крови.

В результате проведенного исследования авторами делается вывод, что, хотя каррагинан более 50 лет широко используется в пищевых продуктах в качестве эмульгатора, стабилизатора и загустителя, некоторые вопросы его безопасности все еще не уточнены.

## რეზიუმე

ენდოგენური ინტოქსიკაციის მაჩვენებლები ვირთავებში კარაგინანის გამოყენების დროს

<sup>1</sup>იკრინიციკაია, <sup>1</sup>მ.მარუშჩაკი, <sup>1</sup>ო.სვანი, <sup>2</sup>ვ. აკიმოვა,  
<sup>1</sup>ლ. მაზური, <sup>1</sup>გ. გაბორი

*<sup>1</sup>ტერნოპილის ი.გორბაჩევსკის სახელობის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ლვოვის დ.გალიცკის სახელობის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა*

ცხოვრების წესის ცვლილებისა და საკვებისადმი დიეტური მიდგომის კვალდაკვალ იზრდება გადამუშავებული და შეფუთული პროდუქტების მოხმარება, რომელიც, როგორც წესი, რიგ საკვებ დანამატებს შეიცავს. ზემოაღნიშნული განაპირობებს ამ ქიმიური ნივთიერებების მოხმარებასაც. ერთ-ერთ ასეთ დანამატს წარმოადგენს კარაგინანი (CGN) - E407. წარმოდგენილ სტატიაში აღწერილია კარაგინანის 0.5%-იანი ხსნარის მოხმარების ეფექტი ენდოგენური ინტოქსიკაციის ძირითადი პარამეტრების მიხედვით ვირთავებში. ექსპერიმენტული კვლევა ჩატარებულია 48 არახაზოვან თეთრ, მამრ, 180-200 გრ წონის ვირთავაზე. ექსპერიმენტულ ცხოველებს ჰქონდათ თავისუფალი წვდომა კარაგინანის 0.5%-იან ხსნართან (Sigma-Aldrich, აშშ) სასმელ წყალში. საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები იღებდნენ სუფთა წყალს. ენდოგენური ინტოქსიკაციის სინდრომი ფასდებოდა საშუალო მასის მოლეკულების შემცველობის განსაზღვრით სისხლის შრატში. დადგენილია, რომ კარაგინანის მინიმალური მოხმარებაც კი ორთვიანი მოხმარების შემდეგ რთავს ენდოგენური ინტოქსიკაციის მექანიზმებს. სასმელი წყლით 0.5%-იანი კარაგინანის ერთთვიანი მოხმარება იწვევს ენდოგენური ინტოქსიკაციის მნიშვნელოვან გაძლიერებას, რაც ვლინდება საშუალო მასის მოლეკულების შემცველობის მატებით სისხლის შრატში (როგორც ჯატყური, ასევე არომატული ამინოჰაფებისა).

ავტორები დაასკვნიან, რომ, მიუხედავად 50 წლის განმავლობაში საკვებ პროდუქტებში ემულგატორის, სტაბილიზატორისა და შემავსებლის სახით კარაგინანის ფართო გამოყენებისა, მისი უსაფრთხოების ზოგიერთი საკითხი ჯერ კიდევ შესასწავლია.

\* \* \*